

UNIVERZITA KARLOVA  
1. LÉKAŘSKÁ FAKULTA

Doktorský studijní program v biomedicině  
Studijní obor: Neurovědy



UNIVERZITA KARLOVA  
1. lékařská fakulta

**Mgr. et Bc. Tereza Cikánková**

**Vliv psychotropních látek na mitochondriální funkce**  
**The effect of psychotropic drugs on the mitochondrial function**

DISERTAČNÍ PRÁCE

Školitel: doc. PharmDr. Jana Hroudová, Ph.D.  
Praha, 2020

**Prohlášení:**

Prohlašuji, že jsem závěrečnou práci zpracovala samostatně a že jsem řádně uvedla a citovala všechny použité prameny a literaturu. Současně prohlašuji, že práce nebyla využita k získání jiného nebo stejného titulu.

Souhlasím s trvalým uložením elektronické verze mé práce v databázi systému meziuniverzitního projektu Theses.cz za účelem soustavné kontroly podobnosti kvalifikačních prací.

V Praze, 7. 9. 2020

Tereza Cikánková

Podpis:

**Identifikační záznam:**

CIKÁNKOVÁ, Tereza. Vliv psychotropních látek na mitochondriální funkce. [The effect of psychotropic drugs on the mitochondrial functions]. Praha, 2020. 54 stran, 4 přílohy. Disertační práce. Univerzita Karlova v Praze, 1. lékařská fakulta, Psychiatrická klinika. Školitel Hroudová, Jana.

## Abstrakt

Psychofarmaka jsou velická skupina léčiv široce používaných nejen v psychiatrii. Jejich systémové podávání ovlivňuje hlavní diagnózu a také působí na organismus jako celek. Předmětem našich experimentů je vliv psychofarmak na změnu mitochondriálních funkcí, což je přínosné pro pochopení jak terapeutických, tak vedlejších účinků těchto léčiv na molekulární úrovni. Cílem předkládané disertační práce bylo studium *in vitro* vlivu vybraných léčiv na energetický metabolismus buňky.

Byla testována vybraná antipsychotika (chlorpromazin, levomepromazin, haloperidol, risperidon, ziprasidon, zotepin, aripiprazol, klozapin, olanzapin a quetiapin), antidepresiva (bupropion, fluoxetin, amitriptylin a imipramin) a stabilizátory nálady (lithium, valproát, valpromid, lamotrigin a karbamazepin). *In vitro* účinky uvedených léčiv byl zkoumán na mitochondriích izolovaných z prasečí šedé hmoty mozkové. Vliv vybraných psychofarmak na aktivitu citrátsyntázy (CS) a enzymatických komplexů (I, II+III, IV) elektronového transportního řetězce (ETC) byla měřena spektrofotometricky. Léčivem indukované změny mitochondriální respirace spojené s komplexem I (podporovaná malátem a pyruvátem) a komplexem II (podporovaná sukcinátem) byly měřeny pomocí respirometrie s vysokým rozlišením.

Aktivita komplexu I byla signifikantně inhibována lithiem, karbamazepinem, fluoxetinem, amitriptylinem, imipraminem, chlorpromazinem, haloperidolem, zotepinem a aripiprazolem. Enzymatický komplex II+III byl signifikantně inhibován pouze zotepinem. Aktivita komplexu IV byla inhibována po expozici karbamazepinem, zotepinem a chlorpromazinem. Aktivita CS nebyla významně ovlivněna žádným z testovaných psychofarmak. Mitochondriální respirace spojená s komplexem I byla signifikantně inhibována bupropionem, fluoxetinem, amitriptylinem, imipraminem, valpromidem, karbamazepinem, lamotriginem, haloperidolem, levomepromazinem, klozapinem, zotepinem, risperidonem, ziprasidonem, quetiapinem a aripiprazolem. Signifikanční inhibice respirace spojené s komplexem II byla pozorována po expozici amitriptylinem, fluoxetinem, karbamazepinem, haloperidolem, levomepromazinem, klozapinem, zotepinem, risperidonem, ziprasidonem a aripiprazolem.

Výsledky této studie potvrzují význam studia účinků léčiv na molekulární a buněčné úrovni (jak vliv na mitochondriální respiraci, tak vliv na aktivity jednotlivých enzymů ETC a citrátového cyklu). Data jsou potřebná pro odhalení mechanismu vzniku některých nežádoucích účinků léčiv a pro pochopení molekulárních mechanismů vedoucích ke změnám v energetickém metabolismu buněk. Podobným přístupem mohou být studovány *in vitro* účinky nově vyvíjených léčiv na mitochondriální funkce.

**Klíčová slova:** Antidepresiva, Antipsychotika, Citrátsyntáza, Energetický metabolismus buňky, Elektronový transportní řetězec, Mitochondriální respirace, Stabilizátory nálady

## Abstract

Psychopharmaca are a large group of drugs widely used not only in psychiatry. Their systemic administration affects both the main diagnosis and the organism as a whole. The subject of our experiments is the effect of psychopharmaca on the changes in mitochondrial functions, which is beneficial for understanding of molecular mechanisms of therapeutic and adverse effects of drugs. The aim of this thesis was to study the *in vitro* effects of selected drugs on the cell energy metabolism.

Selected antipsychotics (chlorpromazine, levomepromazine, haloperidol, risperidone, ziprasidone, zotepine, aripiprazole, clozapine, olanzapine, and quetiapine), antidepressants (bupropion, fluoxetine, amitriptyline, imipramine) and mood stabilizers (lithium, valproate, valpromide, lamotrigine, carbamazepine) were tested. *In vitro* effects of selected psychopharmaca were measured on isolated pig brain mitochondria. The activities of citrate synthase (CS) and electron transport chain (ETC) complexes (I, II+III, IV) were measured spectrophotometrically. Drug-induced changes of mitochondrial respiration rates linked to complex I (supported by malate and pyruvate) and complex II (supported by succinate) were evaluated by high resolution respirometry.

Complex I was significantly inhibited by lithium, carbamazepine, fluoxetine, amitriptyline, imipramine, chlorpromazine, haloperidol, zotepine, and aripiprazole. Complex II+III was significantly inhibited by zotepine. Activity of complex IV decreased after exposure to carbamazepine, zotepine and chlorpromazine. Activity of CS was not significantly affected by any tested drug. Complex I-linked respiration was significantly inhibited by bupropion, fluoxetine, amitriptyline, imipramine, valpromide, carbamazepine, lamotrigine, haloperidol, levomepromazine, clozapine, zotepine, risperidone, ziprasidone, quetiapine, and aripiprazole. Significant inhibition of complex II-linked respiration was observed after being exposed to amitriptyline, fluoxetine, carbamazepine, haloperidol, levomepromazine, clozapine, zotepine, risperidone, ziprasidone, and aripiprazole.

Results of this study confirmed the necessity to investigate the molecular effects of drugs (on both total respiration rate and the individual enzymes of the ETC of citric acid cycle). Data are useful to reveal the mechanism of action of drug-induced adverse effects, as well as to understand the molecular mechanisms leading to changes in cellular energetics. Similar approach can be further applied to study *in vitro* mitochondrial effects of newly developed drugs.

**Keywords:** Antidepressants, Antipsychotics, Cell energy metabolism, Citrate synthase, Electron transport chain complexes, Mitochondrial respiration, Mood stabilizers

## Obsah

Abstrakt .....	4
Abstract.....	5
Obsah .....	6
Seznam publikací .....	8
Poděkování .....	10
1. Úvod.....	11
1.1 Energetický metabolismus buňky .....	11
1.2 Biologické hypotézy poruch nálady .....	14
1.2.1 Monoaminová hypotéza.....	14
1.2.2 Neurotrofní hypotéza .....	15
1.2.3 Mitochondriální hypotéza .....	15
1.3 Antipsychotika .....	16
1.4 Antidepresiva .....	18
1.5 Stabilizátory nálady.....	19
1.6 Vliv změny mitochondriálního metabolismu na vedlejší účinky terapie .....	21
2. Hypotézy a cíl práce .....	23
3. Metody.....	25
4. Výsledky .....	27
4.1 Antipsychotika .....	27
4.2 Antidepresiva .....	31
4.3 Stabilizátory nálady.....	33
5. Diskuze .....	38
5.1 Antipsychotika .....	38
5.2 Antidepresiva .....	40
5.3 Stabilizátory nálady.....	41
6. Závěr.....	44
7. Seznam použité literatury .....	45
8. Seznam příloh .....	54

## Seznam zkratk

ATP	adenosintrifosfát
ADP	adenosindifosfát
BAP	bipolární afektivní porucha
BDNF	mozkový neurotrofní faktor (brain derived neurotrophic factor)
CoQ	koenzym Q <sub>10</sub>
COX	cytochrom c oxidáza
CREB	transkripční faktor aktivovaný v odezvě na zvýšení hladin cyklického adenosinmonofosfátu
p-mGPCR	antagonisté neboli multireceptoroví antagonisté receptoru spřaženého s G proteinem s pleiotropním účinkem antagonistů serotoninových a dopaminových receptorů (SDA)
MARTA	Multi-acting Receptor Targeted Antipsychotics
CS	citrátsyntáza
ETC	elektronový transportní řetězec (electron transport chain)
FAD	flavinadenindinukleotid
FMN	flavinmononukleotid
MPTP	pór mitochondriální přechodné propustnosti (mitochondrial permeability transition pore)
NIPE	neuronový inhibitor s pleiotropním efektem (neuron inhibitor with pleotropic effects)
NSMRI	neselektivní inhibitor zpětného vychytávání monoaminů (nonselective monoamine reuptake inhibitors)
NAA	<i>N</i> -acetylaspartát
NADH	redukováná forma nikotinamidadenindinukleotidu
NAD	oxidovaná forma nikotinamidadenindinukleotidu
NLRP3	nod-like receptor pyrin domain-containing 3
OXPHOS	oxidační fosforylace (oxidative phosphorylation)
ROS	reaktivní formy kyslíku (reactive oxygen species)
SSRI	selektivní inhibitory zpětného vychytávání serotoninu

## Seznam publikací

Sumární IF = 9.399 (související s disertační prací)

Sumární IF = 16.498 (všech publikací)

### 1. Publikace *in extenso* související s disertační prací

**Cikánková T**, Sigitova E, Zvěřová M, Fišar Z, Raboch J, Hroudová J. Mitochondrial dysfunctions in bipolar disorder: effect of the disease and pharmacotherapy. *CNS Neurol Disord Drug Targets*. 2017; 16(2): 176-186. (IF 2017 = 2.084)

Sigitova E, Fišar Z, Hroudová J, **Cikánková T**, Raboch J. Biological hypotheses and biomarkers of bipolar disorder. *Psychiatry Clin Neurosci*. 2017; 7(2): 77-103. (IF 2017 = 3.199)

**Cikánková T**, Fišar Z, Bakhouché Y, Lupták M, Hroudová J. In vitro effects of antipsychotics on mitochondrial respiration. *Naunyn-Schmiedeberg's archives of pharmacology*, 2019; 392(10): 1209-1223. (IF 2018 = 2.058)

**Cikánková T**, Fišar Z, Hroudová J. In vitro effects of antidepressants and mood-stabilizing drugs on cell energy metabolism. *Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology*, 2019; 1-15. (IF 2018 = 2.058)

### 2. Publikace *in extenso* nesouvisející s disertační prací

Korábečný J, Nepovimová E, **Cikánková T**, Špilovská K, Vašková L, Mezeiová E, Kuča K, Hroudová J. Newly Developed drugs for Alzheimer's disease in relation to energy metabolism, cholinergic and monoaminergic neurotransmission. *Neuroscience*, 2018; 370: 191-206. (IF 2018 = 3.244)

Šíma M, Hartinger J, **Cikánková T**, Slanař O. Estimation of once-daily amikacin dose in critically ill adults. *Journal of Chemotherapy*, 2018; 30(1): 37-43. (IF 2018 = 1.599)

Šíma M, Hartinger J, **Cikánková T**, Slanař O.: Importance of vancomycin loading doses in intermittent infusion regimens. *Journal of Infection and Chemotherapy*, 2018; 24(4): 247-250. (IF 2018 = 1.539).

Šíma M, Bakhouché H, Hartinger J, **Cikánková T**, Slanař O.: Therapeutic drug monitoring of antibiotic agents: evaluation of predictive performance. *European Journal of Hospital Pharmacy*, 2019; 26(2): 85-88. (IF 2018 = 0.717).



## **Abstrakta, postery a přednášky na odborných konferencích:**

### **Sborníková sdělení:**

**Daňková T**, Hroudová J, Fišar Z. Vliv antipsychotik a stabilizátorů nálady na energetický metabolismus buňky. Duševní zdraví – věc veřejná. Sborník příspěvků XI. sjezdu Psychiatrické společnosti ČLS JEP s mezinárodní účastí (pořadatelé Anders M, Zrzavecká I, Doubek P). Tribun EU, 2016: 219-221.

Fišar Z, Hroudová J, **Daňková T**, Svobodová M, Musílek K. Účinky léčiv na mitochondriální enzymy. Duševní zdraví – věc veřejná. Sborník příspěvků XI. sjezdu Psychiatrické společnosti ČLS JEP s mezinárodní účastí (pořadatelé Anders M, Zrzavecká I, Doubek P). Tribun EU, 2016: 27-30.

### **Abstrakta:**

**Cikánková T**, Hroudová J, Fišar Z. Účinky antipsychotik a stabilizátorů nálady na energetický metabolismus buňky. 59. Česko-Slovenská psychofarmakologická konference, Jeseník 4.-8.1.2017. Psychiatrie 2017; 21(Supl 1):55, poster.

Fišar Z, Hroudová J, **Cikánková T**, Musílek K, Raboch J. Mitochondriální dysfunkce při Alzheimerově nemoci a možnosti jejich ovlivnění. 17. celostátní konference biologické psychiatrie s mezinárodní účastí, Luhačovice 7.-10. června 2017. Psychiatrie 2017;21(Suppl 2):22-23, přednáška

**Cikánková T**, Fišar Z, Hroudová J. Vliv antipsychotik na energetický metabolismus buňky. Sborník abstrakt XII. sjezdu Psychiatrické společnosti ČLS JEP s mezinárodní účastí (pořadatelé Anders M, Zrzavecká I, Doubek P). Praha, 2018: 85, poster.

**Cikánková T**, Fišar Z, Bakhouch Y, Lupták M, Hroudová J. *In vitro* účinek antipsychotik na mitochondriální respiraci. In vitro effects of antipsychotics on mitochondrial respiration. 62. Česko-Slovenská psychofarmakologická konference, Jeseník 15. - 19. 1. 2020. Psychiatrie 2020; 24 (Supl 1):54, poster.

Počet citací dle Web of Science ke dni (s vyloučením autocitací):

**K 1. 9. 2020 citací 112, bez autocitací 110**

**H index = 4**

## Poděkování

Na tomto místě bych ráda poděkovala své školitelce doc. PharmDr. Janě Hroudové, Ph.D. za trpělivost, odborné rady, všestrannou pomoc a vedení. Dále děkuji kolegům z výzkumné laboratoře: prof. RNDr. Zdeňkovi Fišarovi, CSc., Zdeňkovi Hanušovi a Tereze Kalinové za podnětnou spolupráci. Chtěla bych poděkovat také všem spoluautorům publikací, bez jejichž kooperace by některé části výzkumu nebylo možné realizovat.

Poděkování patří také mé rodině za trpělivost, pomoc a podporu během studia.

*Výzkum by podpořen programovými projekty Ministerstva zdravotnictví ČR s reg. č. 15-28616A a reg. č. 15-28967A a grantovými projekty Grantové agentury ČR s reg. č. 17-07585Y a reg. č. 17-05292S.*

# 1. Úvod

Molekulární psychiatrie je zaměřena na studium biologických aspektů mentálních a neurodegenerativních poruch, zejména neurobiologických, neurochemických, neurofyziologických, neuroimunitních, neuroendokrinních a genetických. Nové biologické hypotézy duševních poruch byly formulovány na základě propojení a zpětnovazebných účinků signálních drah účastnících se přenosu nervového signálu. Etiologie duševních poruch souvisí se strukturálními a funkčními změnami v mozku, vlivem stresu, chronobiologií, aktivitou osy hypotalamus-hypofýza-kůra nadledvin, změnami imunitních funkcí, syntézou a metabolismem neurotransmiterů, hustotou a/nebo afinitou jejich receptorů, a především se změnami v intracelulárních signálních drahách na neurotransmiterových systémech.

Mitochondriální dysfunkce a poruchy na úrovni energetického metabolismu buňky často souvisí s patofyziologií celé řady nejen psychiatrických onemocnění. Náš výzkumný tým se již v minulosti začal zabývat souvislostí patofyziologie psychiatrických chorob se změnami na úrovni mitochondriálního metabolismu. Byl sledován *in vitro* vliv vybraných antidepresiv na mitochondriální funkce. Teoreticky byla rozpracována mitochondriální hypotéza u bipolární afektivní poruchy (BAP). Byla provedena *in vivo* studie na pacientech s BAP, kde byla sledována změna aktivit enzymatických komplexů ETC a mitochondriální respirace spojené s komplexem I a II v závislosti na fázi onemocnění BAP (remise, mánie, deprese) (Hroudová et al. 2019; Zvěřová et al. 2019).

## 1.1 Energetický metabolismus buňky

Důležitým centrem pro energetický metabolismus buňky jsou mitochondrie, v nichž jsou lokalizovány metabolické dráhy citrátového cyklu, oxidační fosforylace (OXPHOS), oxidace mastných kyselin a rozkladu aminokyselin. Tyto buněčné organely tvoří vnější a vnitřní membrána, intermembránový prostor a matrix. Vnější membrána je podobná membránám ostatních organel, odděluje mitochondrie od cytoplazmy, je velmi pórovitá a nezvrásněná. Vnitřní mitochondriální membrána je zformována do množství vchlípení (invaginací, hřebenů, krist), díky kterým je plocha zvětšena pro průběh chemických reakcí. Právě matrix a vnitřní membrána jsou klíčovými místy buněčného dýchání, systému OXPHOS a následné tvorby ATP. V mitochondriální matrix jsou lokalizovány substráty, anorganické ionty, nukleotidové kofaktory, mitochondriální DNA, RNA a ribozomy, enzymy oxidačního metabolismu aj. Velký katalyzační význam v energetickém metabolismu buňky má Krebsův cyklus, v němž dochází k řadě enzymatických reakcí (dehydrogenace, dehydratace, hydratace a dekarboxylace) vedoucích k aerobnímu odbourávání acetyl-CoA (společný meziprodukt degradace sacharidů, lipidů a proteinů) na CO<sub>2</sub>. Mitochondriální matrix komunikuje s vnitřní mitochondriální membránou (Velot and Srere 2000), k níž jsou vázány proteiny podílející se na transportu elektronů a OXPHOS. Aerobní metabolismus mitochondrie (dýchací řetězec a OXPHOS)

poskytuje až 17krát více ATP než anaerobní glykolýza v cytosolu (Gnaiger 2009; Kadenbach et al. 2010).

Nejvyšší počet mitochondrií je přítomen v orgánech vyžadujících velké množství energie, především v mozku, játrech a svazech. Mozek není schopen ukládat velké množství glykogenu a neurony mají nízkou glykolytickou schopnost (např. na rozdíl od astrocytů), proto je nezbytné mít stabilní nabídku glukózy jako hlavní zdroj energie pro okamžitou spotřebu neuronem. Při inhibici mitochondriálního dýchání neurony podléhají rychle apoptóze (Bolanos et al. 2009).

Elektronový transportní řetězec (ETC) neboli dýchací řetězec se skládá ze supramolekulárních proteinových komplexů, kde mitochondriální protonové pumpy (enzymatické komplexy I, III a IV) transportují protony do mezimembránového prostoru a vytvářejí tak protonový gradient na vnitřní mitochondriální membráně (Bunoust et al. 2005; Kadenbach et al. 2010). Elektrony jsou kontinuálně transportovány až do komplexu III a v komplexu IV dochází k přeměně kyslíku na vodu. Díky protonovému gradientu na vnitřní membráně za pomoci ATP syntázy (komplex V) dochází ke vzniku ATP. Přenos elektronů mezi jednotlivými enzymatickými komplexy zprostředkovávají kofaktory koenzym Q<sub>10</sub> (CoQ) a cytochrom *c*. Kofaktor CoQ přenáší elektrony z komplexů I a II do komplexu III a cytochrom *c* z komplexu III do komplexu IV (Kadenbach et al. 2010; Solmaz and Hunte 2008). Procesy ve vnitřní mitochondriální membráně vedoucí k produkci ATP jsou znázorněny na obr. 1.

## Enzymy systému oxidační fosforylace

*Komplex I* (NADH dehydrogenáza (ubichinon), EC 7.1.1.2) je hlavním vstupem vysokoenergetických elektronů do systému ETC. Katalyzuje oxidaci redukovaného nikotinamidadeninukleotidu (NADH), regeneruje tedy NAD<sup>+</sup> pro Krebsův cyklus a pro oxidaci mastných kyselin (Hirst 2010). NADH dehydrogenáza je nejvíce ovlivnitelný komplex ETC po expozici léčiv.

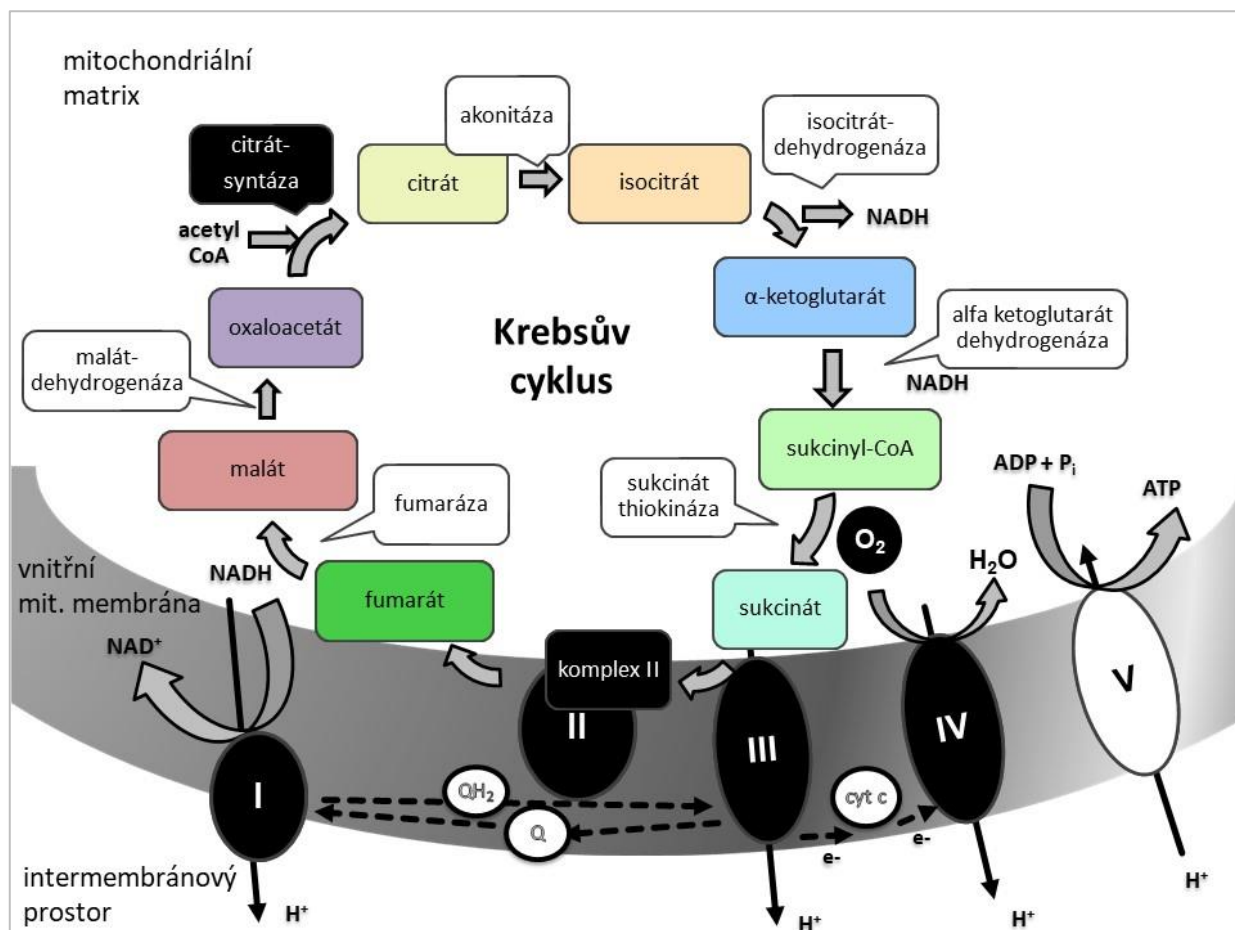
*Komplex II* (sukcinát: ubichinonoxidoreduktáza, sukcinát dehydrogenáza, EC 1.3.5.1) je enzym skládající ze čtyř podjednotek ukotvený ve vnitřní membráně mitochondrií. Tento komplex nepřispívá k protonovému gradientu, ale katalyzuje oxidaci sukcinátu na fumarát za současné redukce ubichinonu na ubichinol. Přímě dodává elektrony ze sukcinátu do elektron transportního řetězce a je vedlejším vstupem do ETC (Tomitsuka et al. 2009).

*Komplex III* (ubichinol: cytochrom *c* oxidoreduktáza, EC 1.10.2.2) oxiduje jednu molekulu ubichinolu a redukuje dvě molekuly cytochromu *c* a podílí se na vytváření protonového gradientu napříč membránou. Reakce, kde se čtyři protony uvolní do intermembránového prostoru, se nazývá Q cyklus (Trumpower 1990).

*Komplex IV* (cytochrom *c* oxidáza, EC 1.9.3.1) oxiduje cytochrom *c* a zprostředkovává přečerpání 4 protonů přes membránu pro konečnou redukci molekulárního kyslíku (O<sub>2</sub>) na vodu (Turrens 2003). Dříve byl komplex IV považován za endogenní metabolický marker neuronální aktivity (Wong-Riley 1989).

*Komplex V* neboli ATP syntáza (EC 3.6.3.14) se skládá ze dvou částí, a to z části  $F_0$  (rotor), což je protonový pór ve vnitřní membráně (tvořené 14 podjednotkami), a z části  $F_1$  (stator) v matrix mitochondrie (tvořené 6 podjednotkami) (Noji and Yoshida 2001; Zanotti et al. 2009). Tato formace umožňuje konverzi elektrochemické potenciální energie do chemické energie v podobě ATP. Protonmotivní síla žene protony přes  $F_0$  část, což umožňuje syntézu ATP v části  $F_1$  (Kadenbach 2003).

Obr. 1: Metabolické cesty v mitochondriální matrix a vnitřní membráně vedoucí ke vzniku ATP



Propojení Krebsova cyklu s dýchacím řetězcem (OXPHOS). Přecherpání vodíkových protonů pomocí oxidoredukčních reakcí na enzymatických komplexech ETC (I, III, IV) za vzniku elektrochemického potenciálu na vnitřní membráně, v jehož důsledku dochází k přecherpání vodíkových protonů přes ATP syntázu (komplex V) a k syntéze ATP. ADP – adenosindifosfát, ATP – adenosintrifosfát, cyt c – cytochrom c, NADH – nikotinamidadenindinukleotid, Q – koenzym  $Q_{10}$  (ubichinon), QH<sub>2</sub> – redukovaná forma koenzymu  $Q_{10}$  (ubichinol)

Mitochondrie jsou semiautonomní organely obsahující svoji vlastní, mitochondriální DNA (mtDNA), která je pouze maternálně dědičná (Scheffler 1998). Třináct polypeptidů kódovaných mtDNA tvoří podjednotky komplexů ETC I, III, IV a V (Scheffler 1998). Většina složek systému OXPHOS je pod kontrolou nukleární DNA (nDNA) - komplex II je kódován

pouze nDNA. Geneticky podmíněné defekty nebo mitochondriální dysfunkce způsobené např. xenobiotiky mohou vést ke zvýšenému oxidačnímu stresu a/nebo narušené homeostáze kalcia.

Kromě klíčové úlohy v syntéze ATP se mitochondrie podílí na řadě důležitých procesů jako je regulace volných kyslíkových radikálů, integrity mitochondriálních membrán, vápníkového metabolismu, apoptózy atd. Dále hraje důležitou roli v neuronálním vývoji např. v synaptogenezi a neuroplasticitě. Zhoršená mitochondriální funkce vede k poruchám v bioenergetice buňky, metabolismu kalcia, zvýšené produkci volných radikálů a poklesu produkce ATP (Hroudova and Fisar 2011).

## **1.2 Biologické hypotézy poruch nálady**

Mnoho biochemických hypotéz poruch nálady předpokládá, že léčiva používaná v terapii duševních chorob působí na úrovni intracelulárních procesů neurotransmiterových signálních drah (primárně monoaminových) (Boku et al. 2018; Levy et al. 2018; Sigitova et al. 2017). Dysfunkce v monoaminergních neurotransmiterových systémech hrají důležitou roli v patofyziologii poruch nálad, pravděpodobně jsou příčinou vzniku následných abnormalit na úrovni přenosu signálu. Hypotézy o patofyziologii deprese a působení antidepressivní léčby naznačují, že funkční změny v konkrétních molekulách a signálních drahách v mozku jsou příčinou vzniku poruch nálad. Antidepressivní terapie působí na úrovni těchto molekulárních změn. Předpokládá se, že strukturální a funkční abnormality v mozku pacientů s duševní poruchou mohou souviset s nízkými hladinami mozkového neurotrofního faktoru (BDNF), abnormální funkcí osy hypothalamus-hypofýza-kůra nadledvin, glutamatergní toxicitou, aktivací zánětlivé imunitní reakce, sníženou antioxidační kapacitou, zvýšeným oxidačním stresem, narušením chronobiologických rytmů a v neposlední řadě s mitochondriální dysfunkcí (aan het Rot et al. 2009; Krishnan and Nestler 2008; Maes et al. 2012; Mathew et al. 2008).

Již je prokázáno, že chronický stres souvisí se sníženou synaptickou plasticitou, strukturálními změnami v neuronových sítích a s poškozením neurogeneze (Pittenger and Duman 2008). Právě mitochondrie mohou být primárními regulátory těchto procesů. Programují totiž nejen přežívání a smrt neuronů, ale také neuroplasticitu. Mitochondriální dysfunkce v patofyziologii a léčbě poruch nálad hraje v současnosti velkou roli (Quiroz et al. 2008).

### **1.2.1 Monoaminová hypotéza**

Výzkum farmakologických vlastností prvních účinných antidepressiv (inhibitorů monoaminoxidáz a tricyklických antidepressiv) vedl ke zjištění ústřední úlohy biogenních aminů (zejména noradrenalinu a serotoninu) v etiopatogenezi afektivních poruch. Klasická monoaminová hypotéza předpokládá, že deprese je způsobena nedostatkem serotoninu a noradrenalinu na funkčně důležitých receptorových místech v mozku, kde monoaminové neurotransmiterové systémy mají v patofyziologii deprese přímou roli (Coppen 1967; Schildkraut 1965). Na podkladu této hypotézy nebylo možné vysvětlit všechny účinky

antidepresiv (Hindmarch 2002; Nestler et al. 2002). Za účelem ověření této hypotézy byla provedena řada studií se záměrem vyhodnocení účinků deplece monoaminu u depresivních pacientů a u zdravých kontrol. Např. deplece serotoninu nebo noradrenalinu/dopaminu nevyvolala žádné účinky ve smyslu zhoršení nálady u zdravých kontrol a mírně zhoršila náladu u zdravých kontrol s depresí v rodinné anamnéze. Nejvýraznější byl účinek deplece serotoninu u pacientů s těžkou depresivní poruchou, kteří byli v remisi a užívali serotonergní antidepresiva. Tato zjištění vedla ke vzniku revidované monoaminové teorie deprese, která tvrdí, že samotné změny koncentrace monoaminových neurotransmiterů v mozku nepostačují k vyvolání symptomů poruch nálady, ale současně musí existovat změny v aktivitě receptorů a přenašečů v určitých oblastech mozku. Je možné, že monoaminové systémy pouze modulují jiné mozkové neurobiologické systémy, které hrají v etiopatogenezi deprese primární roli (Berman et al. 2002; Heninger et al. 1996).

### **1.2.2 Neurotrofní hypotéza**

Neurotrofní hypotéza deprese předpokládá, že riziko rozvoje deprese roste následkem poškození neuronů, např. chronickým stresem, dlouhodobě zvýšenými hladinami glukokortikoidů, hypoglykemií, ischemií, působením neurotoxinů nebo některých virových infekcí atd. (Duman 2002; Duman et al. 1997; Einat and Manji 2006; Zarate et al. 2006). Terapeutické účinky antidepresiv spočívají ve zvýšené funkci noradrenergního nebo serotonergního systému, což vede ke zvýšené aktivitě transkripčního faktoru aktivovaného v odezvě na zvýšení hladin cyklického adenosinmonofosfátu (CREB), vyšší expresi BDNF a jeho receptoru trkB a následně ke zvýšení plasticity neuronů a obnovení buněčných funkcí (Levy et al. 2018).

Podle neurogenní hypotézy se deprese může vyvinout v důsledku snížené neurogeneze v oblasti hippocampu a antidepresivní terapie způsobuje stimulaci neurogeneze (Jacobs 2002; Jacobs et al. 2000). Hypotéza buněčné plasticity spojuje neurotrofní a neurogenní hypotézu s tvrzením, že deprese může být obecně způsobena poškozenou buněčnou plasticitou, která vede k nepřiměřené komunikaci mezi strukturální a funkční entitou (Kempermann and Kronenberg 2003). Bioenergetický a neurochemický model bipolární poruchy se pokouší identifikovat molekulární mechanismy vedoucí k narušení neuroplasticity a zaměřuje pozornost na mitochondriální dysfunkce (Kato and Kato 2000; Stork and Renshaw 2005).

### **1.2.3 Mitochondriální hypotéza**

Dle této hypotézy mitochondriální a metabolické dysfunkce souvisejí s patofyziologií různých neuropsychiatrických poruch, včetně BAP (Fattal et al. 2006; Hroudová et al. 2014; Jou et al. 2009; Kato 2007; Shao et al. 2008; Streck et al. 2014). Změny mitochondriálních funkcí se pojí se zhoršenou OXPHOS vedoucí ke snížené produkci ATP a posunu metabolismu k anaerobní glykolytické produkci energie, snížené dostupnosti substrátů, k rozvoji oxidačního stresu, narušené homeostázi vápníku a indukci apoptózy, což je možné pozorovat v raných

stádiích různých neurodegenerativních onemocnění často spojených s poruchami nálady (Stork and Renshaw 2005).

Mitochondriální dysfunkce u BAP zahrnují sníženou mitochondriální respiraci v důsledku inhibice mitochondriálních komplexů ETC, změny mitochondriální morfologie, zvýšený výskyt polymorfismů, delece nebo mutace mtDNA, snížené hladiny vysokoenergetických fosfátů, zvýšené hladiny laktátu a snížené pH v mozku (Clay et al. 2011). Hypotéza mitochondriální dysfunkce u BAP je založena na nálezech v magnetické rezonanční spektroskopie mozku u pacientů s BAP. V *post mortem* mozkové tkáni pacientů s BAP byla pozorována snížená aktivita přenosu elektronů dýchacím řetězcem a zvýšený oxidační stres. Dá se říct, že BAP je komorbiditou primárních mitochondriálních a metabolických poruch. Dle mitochondriální hypotézy mutace a polymorfismy mtDNA a změny v genové expresi souvisí s patofyziologií BAP (Iwamoto et al. 2005; Kato 2008). Polymorfismy/mutace mtDNA nebo delece mtRNA mohou vyvolat dysregulaci vápníkového metabolismu na úrovni mitochondrie, což vede k příznakům BAP (Kato 2007; Kato 2008; Kato and Kato 2000). Mitochondriální hypotéza je v souladu s výše uvedenou neurotrofní hypotézou vzhledem k důležitosti signální dráhy vápníku, která má velký význam v regulaci synaptické plasticity.

Poškození buněčných funkcí v důsledku zvýšeného oxidačního a nitrosačního stresu a snížené antioxidační kapacity se pravděpodobně podílejí na patofyziologii deprese (Berk et al. 2011; Maes et al. 2012; Maes et al. 2009). Jak mitochondriální dysfunkce, tak rozvoj zánětlivé reakce v neuronu se vyskytují u BAP. Potenciální propojení mezi mitochondriálním poškozením a aktivací zánětlivého systému může probíhat prostřednictvím NLRP3 (nod-like receptor pyrin domain-containing 3) inflamazomu (Kim et al. 2015). Zvýšená produkce reaktivních forem kyslíku (ROS) mitochondriemi (např. při inhibici komplexu I) způsobuje právě aktivaci NLRP3, kaspázy 1 a formaci inflamazomu, což vede k aktivaci cytokinů, rozvoji zánětlivé reakce v neuronu a následné alteraci neurotransmise. Navíc protonová magnetická rezonanční spektroskopie u pacientů s BAP odhalila významně snížené hladiny *N*-acetylaspartátu (NAA) v bazálních gangliích (Kraguljac et al. 2012). Některé z léčiv používaných v léčbě BAP, nazývané také jako mitochondriální modulátory, mají neuroprotektivní účinky a zasahují do těchto patologických procesů při BAP na úrovni mitochondrie (Callaly et al. 2015; Dodd et al. 2013; Hroudova and Fisar 2012; Nierenberg et al. 2013; Quiroz et al. 2008).

### **1.3 Antipsychotika**

#### **1.3.1 Mechanismus účinku antipsychotik**

Antipsychotika jsou široce předepisovaná léčiva, kromě terapie schizofrenie a psychóz se používají také v řadě dalších psychiatrických i nepsychiatrických indikacích (např. BAP, úzkostné poruchy, deliria, stavy neklidu a zmatenosti, mentální retardace, kombinovaná léčba nauzey a zvracení, poruchy spánku, aj.). Hlavním mechanismem účinku je obvykle postsynaptická blokáda dopaminových receptorů typu D<sub>2</sub>. Silná a nespecifická vazba na dopaminové receptory má za následek vysokou četnost nežádoucích účinků v popředí



s extrapyramidovým syndromem a hyperprolaktinémií (Sangani and Saadabadi 2017). Kromě D<sub>2</sub>/D<sub>3</sub> blokády působí také na serotoninové, histaminové, muskarinové a  $\alpha$ -adrenergní receptory. Účinek jednotlivých antipsychotik záleží na afinitě k jednotlivým receptorům.

Typická antipsychotika (1. generace) silně antagonizují D<sub>2</sub> receptory a působení v mezokortikální a mezolimbické oblasti vede k žádoucím terapeutickým účinkům. Dle nové klasifikace se jedná o dopaminové antagonisty receptoru spřaženého s G proteinem (D<sub>2</sub>R-GPCR antagonisté). Haloperidol je typické incisivní antipsychotikum, které působí s vysokou specificitou na D<sub>2</sub> receptory ve ventrálním striatu, čímž vykazuje výrazné vedlejší účinky postihující pohybový aparát jako je parkinsonismus, dyskineze, dystonie a akatizie (Wirshing 2001). Blokáda D<sub>2</sub> receptorů v tuberoinfundibulární dráze vyvolává hyperprolaktinémii.

Chlorpromazin a levomepromazin se řadí do tzv. sedativních typických antipsychotik a mimo dopaminergní neuromodulátorový systém ovlivňují i např. cholinergní a histaminergní systém, což je hlavní příčinou jejich anticholinergních a sedativních vedlejších účinků (Church and Young 1983; Trabucchi et al. 1974).

Atypická antipsychotika (2. generace) jsou charakteristická lepší snášenlivostí, nižším výskytem extrapyramidových nežádoucích účinků a vyšší afinitou k dalším neuromediátorovým receptorům (obvykle antagonizují D<sub>2</sub> a serotoninové 5-HT<sub>2A</sub> receptory a ovlivňují další 5-HT, dopaminové, muskarinové, adrenergní a histaminové receptory) (Kapur and Seeman 2001; Seeman 2002). Dle nové nomenklatury jsou atypická antipsychotika nazývána p-mGPCR antagonisté neboli multireceptoroví antagonisté receptoru spřaženého s G proteinem s pleiotropním účinkem. Ziprasidon a risperidon se řadí do skupiny antagonistů serotoninových a dopaminových receptorů (SDA). Risperidon má vyšší vazebnou afinitu k 5-HT<sub>2</sub> receptorům než k dopaminovým receptorům (Keegan 1994); ziprasidon vykazuje parciální agonismus na 5-HT<sub>1A</sub> receptorech a má relativně vysokou afinitu k histaminovému receptoru H<sub>1</sub> (Nasrallah 2008). Skupina tzv. MARTA antipsychotik (Multi-acting Receptor Targeted Antipsychotics) antagonizuje mnoho neuromediátorových receptorů, jako jsou receptory dopaminové (D<sub>1</sub>, D<sub>2</sub>, D<sub>3</sub> nebo D<sub>4</sub>), serotoninové (5-HT<sub>2A</sub>, 2C, 5-HT<sub>6</sub> nebo 5-HT<sub>7</sub>), adrenergní ( $\alpha_1$  a  $\alpha_2$ ), muskarinové (M<sub>1</sub>, M<sub>2</sub>, M<sub>3</sub>, M<sub>4</sub> a M<sub>5</sub>) a receptory histaminové (H<sub>1</sub>) (Nasrallah 2008). MARTA antipsychotika jsou reprezentována klopazinem, olanzapinem, zotepinem a quetiapinem. Aripiprazol se liší od ostatních atypických antipsychotik především parciálním agonismem na D<sub>2</sub> receptorech (Bolonna and Kerwin 2005). Přestože jsou atypická antipsychotika celkově dobře tolerována, vedlejší účinky jako je hyperglykémie, dyslipidémie, přibývání na váze a hypertenze jsou rizikové faktory pro rozvoj metabolického syndromu, což může hrát významnou roli při dlouhodobé terapii (Masand et al. 2005).

### 1.3.2 Vliv antipsychotik na mitochondriální funkce

Ačkoliv mechanismus účinku a vedlejší účinky antipsychotik jsou již dobře známy, jejich vliv na energetický metabolismus buňky nebyl zcela objasněn. Z dostupné literatury je zřejmé, že mitochondriální poškození souvisí s některými vedlejšími účinky antipsychotik (Scatena et al. 2007). Inhibice komplexu I po expozici antipsychotiky koreluje s extrapyramidovou

toxicitou antipsychotické léčby (Maurer and Möller 1997). Zdá se, že extrapyramidové vedlejší účinky antipsychotik souvisí se změnami na úrovni mitochondriálního metabolismu, které jsou výraznější u typických antipsychotik (Casademont et al. 2007). Léčba antipsychotiky je doprovázena v různé intenzitě inhibicí na úrovni enzymatického komplexu ETC, obdobný fenomén lze pozorovat u pacientů s Parkinsonovou nemocí (Burkhardt et al. 1993). Podobně byla pozorována při antipsychotické terapii snížená aktivita enzymatických komplexů ETC a produkce ROS u tardivní dyskineze (Elkashef and Wyatt 1999; Goff et al. 1995).

Zaznamenali jsme u některých antipsychotik koincidenci inhibice komplexu I ETC a prodloužení QTc intervalu. U antipsychotik s doloženým nežádoucím účinkem prodloužení intervalu QTc (např. chlorpromazin, klozapin, haloperidol, risperidon, quetiapin a ziprasidon) byla pozorována i inhibice aktivity komplexu I po expozici těmito antipsychotiky (Glassman and Bigger 2001; Haddad and Anderson 2002; Taylor 2003; Vieweg 2003).

Vyšší prevalence metabolického syndromu při terapii antipsychotiky může souviset s inhibicí enzymů ETC, sníženou mitochondriální respirací a změnami v mitochondriální dynamice (Scaini et al. 2018).

## **1.4 Antidepresiva**

### **1.4.1 Mechanismus účinku antidepresiv a receptorový profil antidepresiv**

Antidepresiva jsou široce užívanými léčivy v terapii deprese, BAP, k léčbě úzkostných poruch a posttraumatické stresové poruchy, při poruchách příjmu potravy, při poruchách spánku a k léčbě enurézy (enuresis nocturna) u pediatrických pacientů (Ghaemi et al. 2003). Skupina antidepresiv je typická svojí heterogenitou v mechanismu účinku jednotlivých skupin a zástupců. Nepůsobí jen jako inhibitory zpětného vychytávání monoaminů nebo jako antagonisté/agonisté receptorů určitých neuromediátorových systémů, ale již jsou známy jejich neurotrofní účinky, díky kterým mohou ovlivňovat neuronální plasticitu (Castrén 2004).

První generaci antidepresiv zastupují dnes tricyklická antidepresiva imipramin a amitriptylin. V nové klasifikaci jsou nazvány neselektivními inhibitory zpětného vychytávání monoaminů (nonselective monoamine reuptake inhibitors, NSMRIs). Tato psychofarmaka inhibují zpětné vychytávání noradrenalinu, dopaminu a serotoninu ze synaptické šterbiny. Jejich klinické použití je často komplikováno četnými nežádoucími účinky, jako jsou prodloužení QTc intervalu, sucho v ústech, zácpa a tachykardie (anticholinergní účinky), posturální hypotenze a následná tachykardie (antiadrenergní účinky) a díky jejich antagonistickým účinkům na histaminové receptory i sedace a zvýšená chuť k jídlu s následným přibýváním na váze. Na molekulární úrovni působí jako tzv. „rozpojovače oxidační fosforylace“ - inhibují oxidaci NADH a syntézu ATP (Weinbach et al. 1986).

Druhá generace antidepresiv (heterocyklika) nejsou již v současnosti používána. Třetí generaci antidepresiv zastupují selektivní inhibitory zpětného vychytávání serotoninu (SSRI); tato antidepresiva jsou v současné době léky první volby pro terapii deprese. Mohou být užívány dlouhodobě a zabránit relapsu onemocnění. Mezi vedlejší účinky SSRI patří nauzea, zvracení, únava, průjem a sexuální poruchy, přičemž nežádoucí účinky postihující GIT jsou

zpravidla přechodné a provázejí jen úvodní léčbu. Celkově je jejich tolerance považována za velmi dobrou (Hyttel 1994).

Bupropion je atypické antidepresivum působící jako inhibitor zpětného vychytávání noradrenalinu a dopaminu (NDRI). Toto antidepresivum je obvykle dobře snášeno, nejčastějšími vedlejšími účinky jsou cefalgie, suchost sliznic, závratě a nevolnost. Častým vedlejším účinkem je nespavost, která často odezní (Ascher et al. 1995).

#### **1.4.2 Vliv antidepresiv na mitochondriální funkce**

Antidepresiva různou měrou ovlivňují enzymy dýchacího řetězce ETC. Tricyklická antidepresiva (amitriptylin a imipramin) významně inhibují aktivitu komplexu I a II (Hroudova and Fisar 2010). U fluoxetinu byla pozorována významná inhibice mitochondriálních enzymů ETC (komplexy I, II + III a IV) a celkové zhoršení mitochondriální funkce (Abdel-Razaq et al. 2011). Avšak akutní a chronická expozice fluoxetinem (24 hodin vs. 28 dnů) měla variabilní dopad na aktivitu komplexů ETC. Akutní podávání fluoxetinu (12.5 nebo 25 mg/kg) indukovalo aktivitu CS ve striatu, prefrontální kůře a hippocampu. Chronické podávání stejných dávek fluoxetinu po dobu 28 dnů aktivitu CS neovlivnilo (Agostinho et al. 2011b). Po expozici bupropionem byl na molekulární úrovni pozorován zvýšený výskyt cytotoxicity, mitochondriálního poškození a apoptóza, což souviselo se zvýšenou produkcí ROS, lipoperoxidací, vyčerpáním intracelulárního glutathionu a uvolněním mitochondriálního cytochromu c (Ahmadian et al. 2017; Jang et al. 2011).

Při léčbě tricyklickými antidepresivy (amitriptylin, imipramin) jsou známy případy torsade de pointes. Možnou příčinou vzniku prodlouženého QTc intervalu a následného rozvoje torsade de pointes je blokáda draslíkových kanálů (Vieweg and Wood 2004). V klinických studiích při uvádění fluoxetinu na trh nebyly evidovány žádné změny na EKG, ale v rámci farmakovigilační kontroly byly hlášeny případy s prodlouženým intervalem QTc nebo torsade de pointes po podání fluoxetinu (Lherm et al. 2000; Varriale 2001).

### **1.5 Stabilizátory nálady**

Farmakoterapie BAP je založena na podávání stabilizátorů nálady – zejména lithia, valproátu, lamotriginu a karbamazepinu. Tato skupina léčiv je typická svou různorodostí v mechanismech účinků a charakteristická svými pleotropními účinky. V nové nomenklatuře se o karbamazepinu, valproátu a lamotriginu mluví jako o neuronových inhibitech s pleiotropním efektem (neuron inhibitors with pleiotropic effects, NIPes). Nedávno provedené studie rovněž poskytly údaje o účincích chronické léčby stabilizátory nálady na mitochondriální funkce (Finsterer and Zarrouk Mahjoub 2012).

Mitochondriální hypotéza BAP zahrnuje řadu společných rysů od samotné inhibice na úrovni celého energetického metabolismu buňky, snížené syntézy ATP, přesmyku z OXPHOS na glykolýzu a zvýšeného oxidačního stresu, po strukturální změny v mitochondrii, abnormality na úrovni vápníkové signalizace, zvýšenou expresi proapoptogenních genů,

mutace a polymorfismy mitochondriálních genů (Benes et al. 2006; Cataldo et al. 2010; Frey et al. 2007; Kato 2008; Munakata et al. 2005; Stork and Renshaw 2005).

### **1.5.1 Efekt stabilizátorů nálady na mitochondriální funkce**

Lithium je alkalický iont a je indikován k léčbě a profylaxi manických epizod BAP. Lithium se používá také k augmentační léčbě těžké deprese, schizofrenie a k léčbě schizoafektivní poruchy. Antidepresivní efekt lithia je pravděpodobně způsoben ovlivněním neurotransmise prostřednictvím receptorů 5-HT<sub>1A</sub> a 5-HT<sub>1B</sub> (Haddjeri et al. 2000; Redrobe and Bourin 1999). Lithium vykazuje neuroprotektivní vlastnosti ve smyslu prevence apoptózy, a to různými mechanismy účinku jako např. inhibicí inositolmonofosfatázy a glykogensyntázy kinázy 3, jakožto regulačního enzymu podílejícího se na genové expresi proteinů odpovědných za apoptózu, buněčnou odolnost a synaptickou plasticitu (Zarate et al. 2006). Lithium zvyšuje toleranci pro vysokou koncentraci iontů vápníku v mitochondrii, čímž snižuje citlivost mitochondrie k depolarizaci, zabraňuje bobtnání organel a uvolňování cytochromu c. Vysoká koncentrace kalciových iontů totiž zvyšuje neurotoxicitu způsobenou depolarizací buňky, která následně vyvolá inhibici OXPHOS a aktivaci mitochondriálních apoptogenních proteinů (Cebers et al. 1997).

Valproát pro jeho antimanický účinek je často podáván v případě neúčinnosti nebo intolerance lithia (Janicak 1993). V praxi se používají přípravky obsahující kombinaci kyseliny valproové, sodných solí valproátu a/nebo přípravky obsahující valpromid (derivát karboxamidu kyseliny valproové) (Macritchie et al. 2003). Valproát i lithium vykazují antiapoptogenní vlastnosti ve smyslu snižování toxicity vyvolané rotenonem, uvolňování cytochromu c a aktivace kaspázy-3 (Lai et al. 2006). Valproát negativně ovlivňuje mitochondriální metabolismus prostřednictvím inhibice mitochondriální  $\beta$ -oxidace lipidů a snížením dostupnosti kofaktorů lipidového metabolismu, což má za následek celkový pokles ATP syntézy v mitochondrii (Aires et al. 2010; Silva et al. 2008). Dále byl pozorován zvýšený oxidační stres po expozici valproátu, který souvisel s významnou inhibicí aktivity enzymatického komplexu II, zvýšenou propustností mitochondriálních pórů mitochondriální přechodné propustnosti (mitochondrial permeability transition pore, MPTP), což vede k uvolňování cytochromu c a následné apoptóze (Jafarian et al. 2013).

Karbamazepin je antiepileptikum používané při léčbě BAP nejčastěji v případech nesnášenlivosti nebo neúčinnosti lithia a valproátu (Post and Weiss 2011). Podle dostupné literatury karbamazepin negativně zasahuje do energetického metabolismu buňky: snižuje rychlost mitochondriální respirace, ATP syntézu, narušuje membránový potenciál a zhoršuje mitochondriální metabolismus vápníku, což následně vede k mitochondriální toxicitě (Santos et al. 2008). Osmiměsíční terapie karbamazepinem u dětí významně snížila syntézu ATP, a to na úrovni všech enzymatických komplexů ETC (I-IV) v homogenizovaných lymfocytech (Berger et al. 2010). Karbamazepin také vyvolával inhibici komplexu I a v průběhu terapie byl zaznamenán neuroprotektivní efekt před rotenonem navozené striatální dysfunkci (Costa et al. 2008).

Antikonvulzivum třetí generace, lamotrigin, je indikován při léčbě depresivních epizod BAP. Principem mechanismu účinku lamotriginu je inhibice napěťově řízených sodíkových kanálů a následné potlačení uvolnění glutamátu a aspartátu (excitační neurotransmise CNS), což vede ke stabilizaci neuronálních membrán. Také blokuje vápníkové kanály typu L-, N-, P- a slabě inhibuje receptor 5-HT<sub>3</sub> (Rogawski and Löscher 2004; Walden et al. 2000). Lamotrigin vykazuje neuroprotektivní účinky na úrovni mitochondrie, snižuje propustnost MPTP a blokuje inhibiční účinek rotenonu na komplexu I (Kim et al. 2007; Lagrue et al. 2007). Dvouletá léčba lamotriginem u dětí významně zvýšila ATP syntézu podporovanou pyruvátem, malátem a sukcinátem v periferních lymfocytech (Berger et al. 2010).

## **1.6 Vliv změny mitochondriálního metabolismu na vedlejší účinky terapie**

Ačkoliv mechanismus účinku i vedlejší účinky vybraných léčiv jsou již dobře známy, jejich vliv na energetický metabolismus buňky zůstává do značné míry neznámý. Změny na úrovni mitochondrie mohou významně souviset s terapií a řada vedlejších účinků terapie mohou být důsledkem poruch mitochondriálního metabolismu (Scatena et al. 2007). Změny mitochondriálního metabolismu pod vlivem zkoumaných léčiv jsou projevem regulace na úrovni mitochondriálních genů kódujících složky respiračního řetězce (Iwamoto et al. 2005).

Inhibice komplexu I po expozici antipsychotiky koreluje s extrapyramidovou toxicitou antipsychotické léčby, přičemž u typických antipsychotik je inhibice výraznější než u atypických antipsychotik (Casademont et al. 2007). Souvislost lze pozorovat u Parkinsonovy choroby, kde byla pozorována inhibice enzymatického komplexu I jako při terapii antipsychotiky (Burkhardt et al. 1993). Obdobně u tardivní dyskineze dochází k inhibici aktivit enzymatických komplexů ETC a zvýšení produkce ROS jako u antipsychotické léčby (Elkashef and Wyatt 1999; Goff et al. 1995).

U některých testovaných léčiv (především ze skupiny antipsychotik a antidepresiv) s prokázaným prodloužením QTc intervalem jako nežádoucím vedlejším účinkem lze pozorovat určitou koincidenci se změnami v aktivitě na dýchacím řetězci ETC, konkrétně inhibice komplexu I (viz diskuze) (Glassman and Bigger 2001; Haddad and Anderson 2002; Taylor 2003). Existují důkazy, že prodloužení QTc intervalu a srdeční anomálie mají určitou souvislost s mitochondriálními myopatiemi, pro které jsou charakteristické změny aktivit enzymatických komplexů ETC (Anan et al. 1995; Karanikis et al. 2005; Kobayashi et al. 1987; Maron et al. 2006; Ogasahara et al. 1989). Mitochondriální myopatie způsobená mitochondriálními defekty na úrovni enzymatických komplexů ETC se mohou projevovat změnami v EKG na základě iontové dysbalance (změna mitochondriálního metabolismu vápníku) (Liu et al. 2014).

Existují důkazy, že mitochondriální dysfunkce (snížená aktivita enzymatických komplexů ETC) souvisí s patofyziologií inzulinové rezistence (Kim et al. 2008). Vyšší prevalence metabolického syndromu u pacientů s BAP s velkou pravděpodobností také koreluje s inhibicí aktivit enzymatických komplexů ETC či se sníženou mitochondriální respirací, změnou metabolismu mitochondriálních lipidů způsobenou terapií BAP nebo samotnou etiopatogenezi

BAP (Taylor and MacQueen 2006). Valproát negativně zasahuje do lipidového metabolismu a způsobuje změnu lipidového spektra v séru (Silva et al. 2008). Terapie tricyklickými antidepresivy zvyšuje incidenci diabetu mellitu typu 2 (Deuschle 2013; van Reedt Dortland et al. 2010).

Na druhou stranu dlouhodobá léčba vybranými léčivy vykazuje neuroprotektivní účinky projevující se zvýšenou hladinou NAA. Snížené hladiny NAA pravděpodobně souvisí s patogenezí BAP. Zdá se, že hladina NAA může sloužit jako ukazatel stavu mitochondriálního metabolismu či prediktor účinnosti terapie nebo progresu onemocnění (Strakowski et al. 2005). Při terapii valproátem, lithiem nebo lamotriginem roste hladina NAA u pacientů s BAP (Soeiro-de-Souza et al. 2012; Zanetti et al. 2015).

Odhalení užších souvislostí mezi mitochondriálními změnami a chorobami/vedlejšími účinky léčiv může mít velký přínos do klinické praxe.

## 2. Hypotézy a cíl práce

Poruchy nálady pravděpodobně souvisejí se změnou v transdukcii signálu chemickou synapsí, což může být následkem organických, fyziologických i environmentálních podnětů; narušená bioenergetika neuronů se může podílet na patofyziologii poruch nálady. Předpokládáme, že psychofarmaka, která se v současnosti podávají nebo nově vyvíjejí pro léčbu duševních poruch, mohou působit na úrovni mitochondrie ve smyslu regulace mitochondriálních funkcí, ovlivňování neuroplasticity, homeostázy vápníku a regulace tvorby ROS s odpovědí na zánětlivé projevy, stres a neurotoxicitu.

Na základě této hypotézy jsme studovali účinky vybraných psychofarmak s farmakologicky odlišnými mechanismy účinku na aktivitu mitochondriálních enzymů (citrátsyntázy a enzymatických komplexů ETC), které jsou klíčové pro produkci ATP jako hlavního zdroje energie buňky. Primárním cílem této studie bylo objevení indukovaných změn ve vybraných mitochondriálních funkcích po expozici antipsychotiky, antidepressivy a stabilizátory nálady.

Na základě studia mitochondriální hypotézy BAP jsme se rozhodli zkoumat *in vitro* efekt léčiv užívaných v terapii BAP na mitochondriální metabolismus. Předmětem zkoušení byla léčiva ze skupin:

- antipsychotik (chlorpromazin, levomepromazin, haloperidol, risperidon, ziprasidon, zotepin, aripiprazol, klozapin, olanzapin a quetiapin)
- antidepressiv (amitriptylin, imipramin bupropion a fluoxetin)
- stabilizátorů nálady (lithium, valproát, valpromid, lamotrigin a karbamazepin)

Byly sledovány změny na úrovni mitochondriálního metabolismu po expozici vybranými léčivy, a to konkrétně v:

- aktivitě enzymatických komplexů (I, II+III, IV) elektronového transportního řetězce (ETC)
- aktivitě citrátsyntázy (CS)
- respirační rychlosti mitochondrií podporované malátem a pyruvátem (respiraci spojené s komplexem I)
- respirační rychlosti mitochondrií podporované sukcinátem (respiraci spojené s komplexem II)

Odhalení mechanismu působení léčiv na úrovni mitochondriálního metabolismu nám může napomoci pochopit souvislosti mezi terapeutickými a vedlejšími účinky, umožnit predikovat účinnost terapie či být přínosné při vývoji nového léčiva.

**Stanovené hypotézy:**

Léčiva užívaná v terapii BAP (stabilizátory nálady, antidepresiva, antipsychotika) zasahují do synaptické aktivity a energetického metabolismu buňky.

**Cíl studia:**

Primárním cílem pro verifikaci stanovené hypotézy bylo studium a kvantifikace *in vitro* efektu vybraných antipsychotik, antidepresiv a stabilizátorů nálady na buněčné dýchání spojené s komplexem I a II, který byl hodnocen pomocí respirometrie s vysokým rozlišením. Dále byla spektrofotometricky hodnocena aktivita enzymatických komplexů ETC (I, II+III, IV) a CS.



### 3. Metody

Použité metody jsou *in extenso* popsány v příložených publikacích.

#### Izolace mitochondrií

Mitochondrie byly izolovány z šedé kůry mozkové prasat a čištěné na sacharózovém gradientu. Koncentrace proteinů byly stanoveny metodou Lowry (Lowry et al. 1951). Pro měření aktivity komplexů ETC byly použity mitochondrie uložené při -70 °C a pro měření mitochondriální respirace byly použity čerstvě izolované mitochondrie (Fisar et al. 2010; Pinna et al. 2003).

#### Testovaná psychofarmaka

- Antipsychotika - chlorpromazin, levomepromazin, haloperidol, risperidon, ziprasidon, zotepin, aripiprazol, klozapin, olanzapin, quetiapin
- Antidepresiva - amitriptylin, imipramin bupropion, fluoxetin
- Stabilizátory nálady - lithium, valproát, valpromid, lamotrigin, karbamazepin

#### Spektrofotometrická měření

Pomocí spektrofotometru Uvicon XL (SECOMAM, Alès, France) byla měřena aktivita CS a enzymatických komplexů ETC. Suspenze mitochondrií s příslušnými médii, substráty, inhibitory a oxidoredukčními činidly byly inkubovány s příslušnými léčivy po dobu 30 min při teplotě 30 °C. Zkoušená léčiva byla přidána v koncentraci 50 µmol/L. Každé jednotlivé měření bylo porovnáno s kontrolou (přidáno rozpouštědlo bez léčiva).

Spektrofotometricky byla měřena aktivita těchto enzymů:

- CS (citrátsyntáza; EC 2.3.3.1)
- Komplex I (NADH dehydrogenáza (ubichinon), EC 7.1.1.2)
- Komplex II+III (sukcinát dehydrogenáza, EC 1.3.5.1, + koenzym Q: cytochrom c – oxidoreduktáza, EC 1.10.2.2)
- Komplex IV (cytochrom c oxidáza, EC 1.9.3.1)

#### Mitochondriální respirace

Respirační rychlost podporovaná malátem a pyruvátem (respirace spojená s komplexem I) a sukcinátem (respirace spojená s komplexem II) byla měřena pomocí oxygrafu (Oxygraph-2k, Oroboros Instruments, Innsbruck, Rakousko). Principem je polarografické měření mitochondriální spotřeby kyslíku pomocí velmi citlivých Clarkových elektrod. Komory oxygrafu byly naplněny respiračním médiem MiR05 (bez BSA) na konečný objem 2 ml. Finální koncentrace mitochondriálních proteinů byla 0.05 – 0.20 mg/mL. Pro stanovení rychlosti spotřeby kyslíku mitochondriemi spojené se vstupem elektronů přes komplex I nebo přes

komplex II byly použity specifické substráty a inhibitory. Po dosažení zvoleného respiračního stavu byla titrována léčiva (v kontrolních měřeních jen rozpouštědlo) pomocí titrační injekční mikropumpy (TIP2k, Oroboros Instruments, Innsbruck, Rakousko). Konečné koncentrace léčiv byly 5–750  $\mu\text{mol/L}$ , s výjimkou aripiprazolu, jehož účinek byl změřen pouze v koncentracích 0.625 - 25  $\mu\text{mol/L}$  kvůli tendenci ke srážení ve vyšších koncentracích (Cikankova et al. 2016; Pesta and Gnaiger 2012).

### **Analýza dat a statistika**

Aktivity mitochondriálních enzymů byly měřeny jako změny absorbance v čase pomocí softwaru LabPower Junior (SECOMAM). Byly stanoveny relativní změny enzymatických aktivit po expozici léčivy za předpokladu, že aktivita kontroly byla 100 %. Data z respirometrie s vysokým rozlišením byla analyzována pomocí softwaru DatLab 4.3 (Oroboros Instruments, Innsbruck, Rakousko). Rychlost mitochondriální spotřeby kyslíku byla vyjádřena jako hmotnostně specifický tok kyslíku ( $\text{pmol O}_2$  spotřebovaný za sekundu / mg proteinu ve vzorku).

Inhibice respirační rychlosti byla analyzována pomocí čtyřparametrické logistické regrese v programu SigmaPlot software (Systat Software. Inc., Richmond, USA). Byla určena polovina maximální inhibiční koncentrace ( $\text{IC}_{50}$ ), Hillova směrnice a reziduální aktivita po expozici vysokými koncentracemi léčiv.

Výsledky byly analyzovány softwarovým systémem pro analýzu dat STATISTICA (verze 12.0, TIBCO Software Inc., Palo Alto, USA). Pro stanovení toho, zda se enzymatická aktivita ve vzorku s léčivem významně liší od kontroly (100 %), byl použit jednovýběrový t-test. Data jsou vyjádřena jako průměr  $\pm$  standardní odchylka.

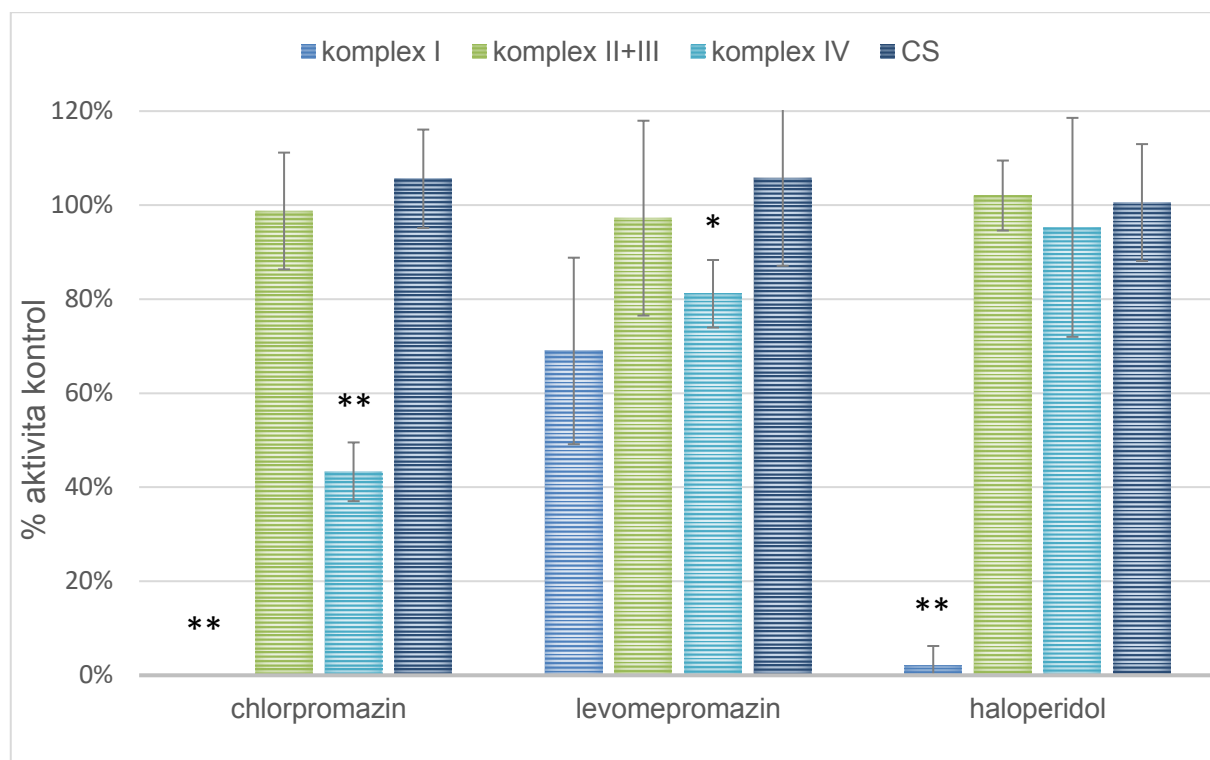
## 4. Výsledky

### 4.1 Antipsychotika

#### Aktivita citrátsyntázy a enzymatických komplexů ETC

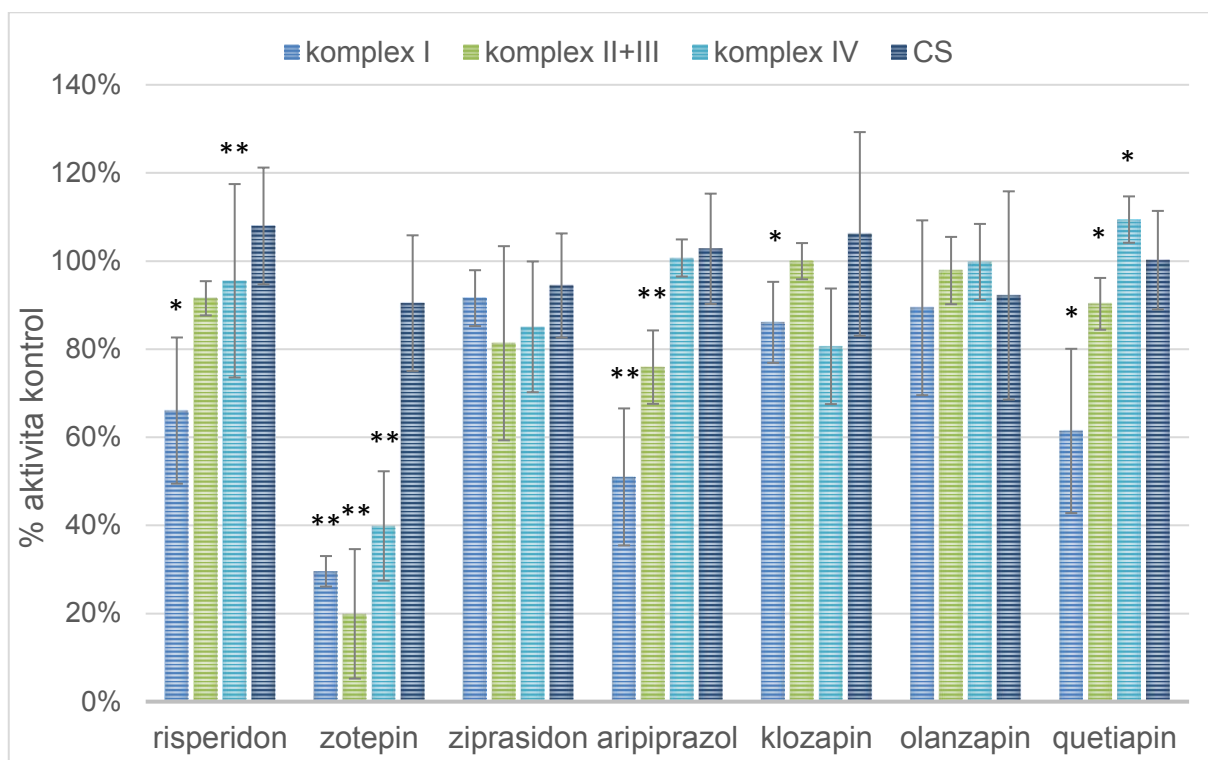
Nejvýrazněji ze všech enzymatických komplexů byl ovlivněn komplex I, který je velmi citlivý na účinky léčiv (graf 1A, 1B). Signifikantně významné inhibiční účinky byly pozorovány po inkubaci s haloperidolem, zotepinem, aripiprazolem, risperidonem, klozapinem a quetiapinem. Chlorpromazin aktivitu komplexu I zcela blokoval. Aktivita komplexu II + III byla velmi signifikantně inhibována zotepinem. Významně snížená aktivita komplexu II + III byla také zjištěna po expozici aripiprazolem, quetiapinem a risperidonem; jiná testovaná antipsychotika významně neovlivnila aktivitu komplexů II + III. Aktivita komplexu IV byla statisticky významně inhibována zotepinem a mírně inhibována levomepromazinem a chlorpromazinem. Naproti tomu signifikantně zvýšená aktivita komplexu IV byla pozorována po inkubaci s quetiapinem. Žádné z testovaných léčiv statisticky významně neovlivnila aktivitu CS.

Graf 1A: Vliv typických antipsychotik na enzymatické komplexy ETC



Hladina statistické významnosti (p-hodnota) byla vypočtena pomocí Wilcoxonova testu (\*  $p < 0,05$ ; \*\*  $p < 0,01$ )

Graf 1B: Vliv atypických antipsychotik na enzymatické komplexy ETC



Hladina statistické významnosti (p-hodnota) byla vypočtena pomocí Wilcoxonova testu (\*  $p < 0,05$ ; \*\*  $p < 0,01$ )

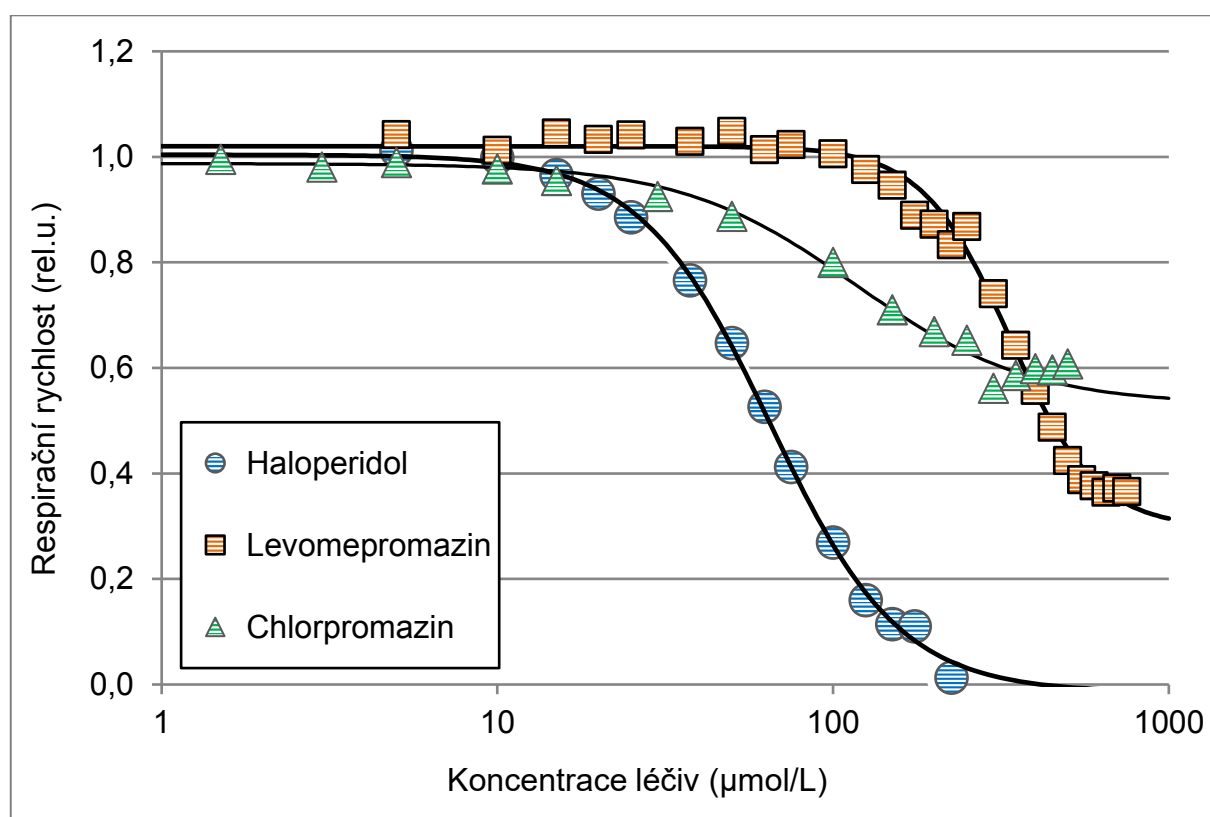
### Mitochondriální respirace

Inhibiční účinky testovaných antipsychotik ukazují grafy 2A a 2B a 3A a 3B. Parametry charakterizující sílu a typ inhibice jsou shrnuty v tabulkách 1 a 2.

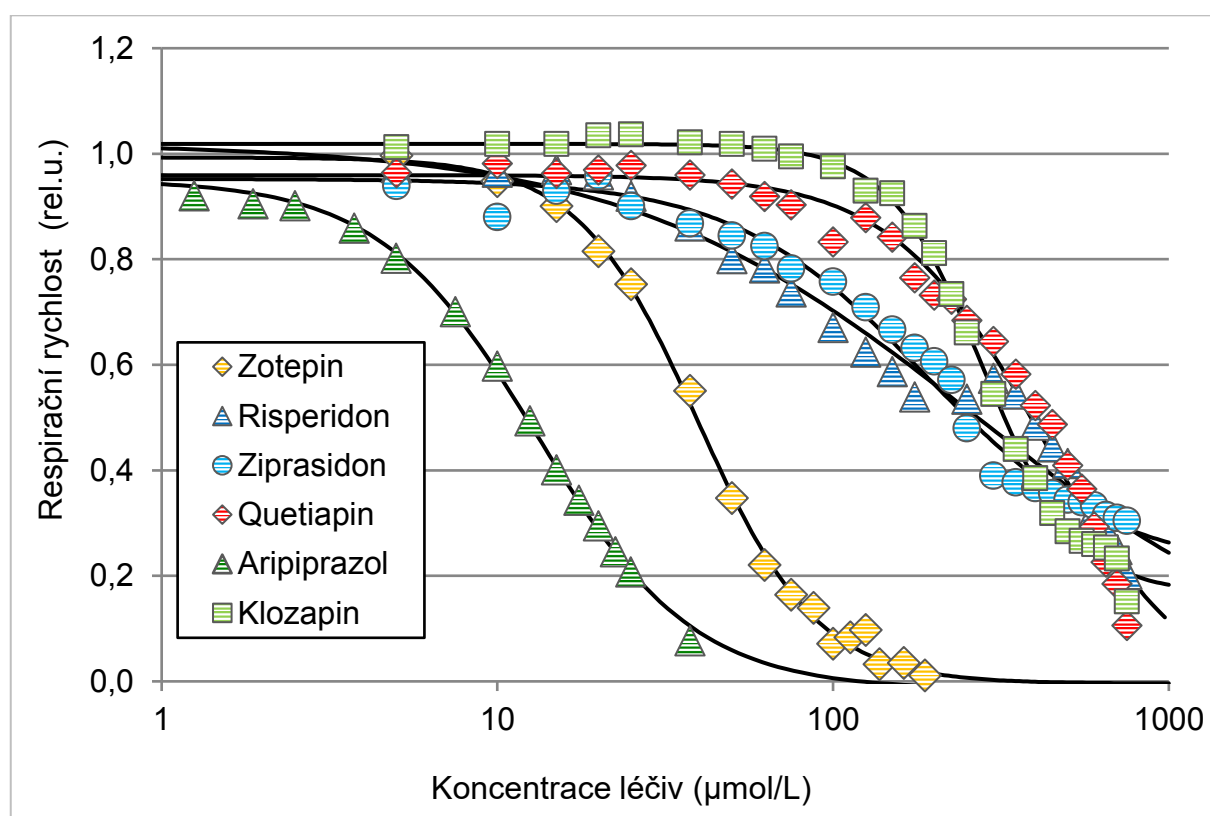
Respirace spojená s komplexem I byla silně inhibována aripiprazolem, zotepinem a haloperidolem s  $IC_{50}$   $13.1 \pm 1.3$ ;  $39.5 \pm 2.7$  a  $64.9 \pm 4.6$   $\mu\text{mol/L}$ . Tato léčiva vykazovala úplnou inhibici mitochondriální respirace v koncentracích do 250  $\mu\text{mol/L}$ . U risperidonu a quetiapinu ( $IC_{50} = 262.9 \pm 25.8$ ;  $423.5 \pm 16.5$   $\mu\text{mol/L}$ ) byla také pozorována plná inhibice, avšak až při vyšších koncentracích (750  $\mu\text{mol/L}$ ). Další testovaná antipsychotika (ziprasidon, klozapin a levomepromazin) působila jako parciální inhibitory mitochondriální respirace spojené s komplexem I (při 750  $\mu\text{mol/L}$ ) (graf 2A a 2B). Již dříve byl publikován inhibiční účinek mitochondriální respirace spojené s komplexem I chlorpromazinem, jehož data jsou v grafu 2A a 3A znázorněny (Hroudova and Fisar 2012).

Statisticky významná inhibice respirace spojené s komplexem II byla pozorována po expozici zotepinem a klozapinem ( $IC_{50} = 107.4 \pm 26.4$  a  $649.8 \pm 23.8$   $\mu\text{mol/L}$ ), které lze označit jako plné inhibitory. Aripiprazol částečně inhiboval v koncentraci 150  $\mu\text{mol/L}$  ( $IC_{50} = 32.0 \pm 2.8$   $\mu\text{mol/L}$ ). Další antipsychotika (ziprasidon, haloperidol, risperidon a quetiapin) působila jako parciální inhibitory respirace spojené s komplexem II, kdy inhibice byla pozorována až při vyšších koncentracích (750  $\mu\text{mol/L}$ ) (graf 3A a 3B).

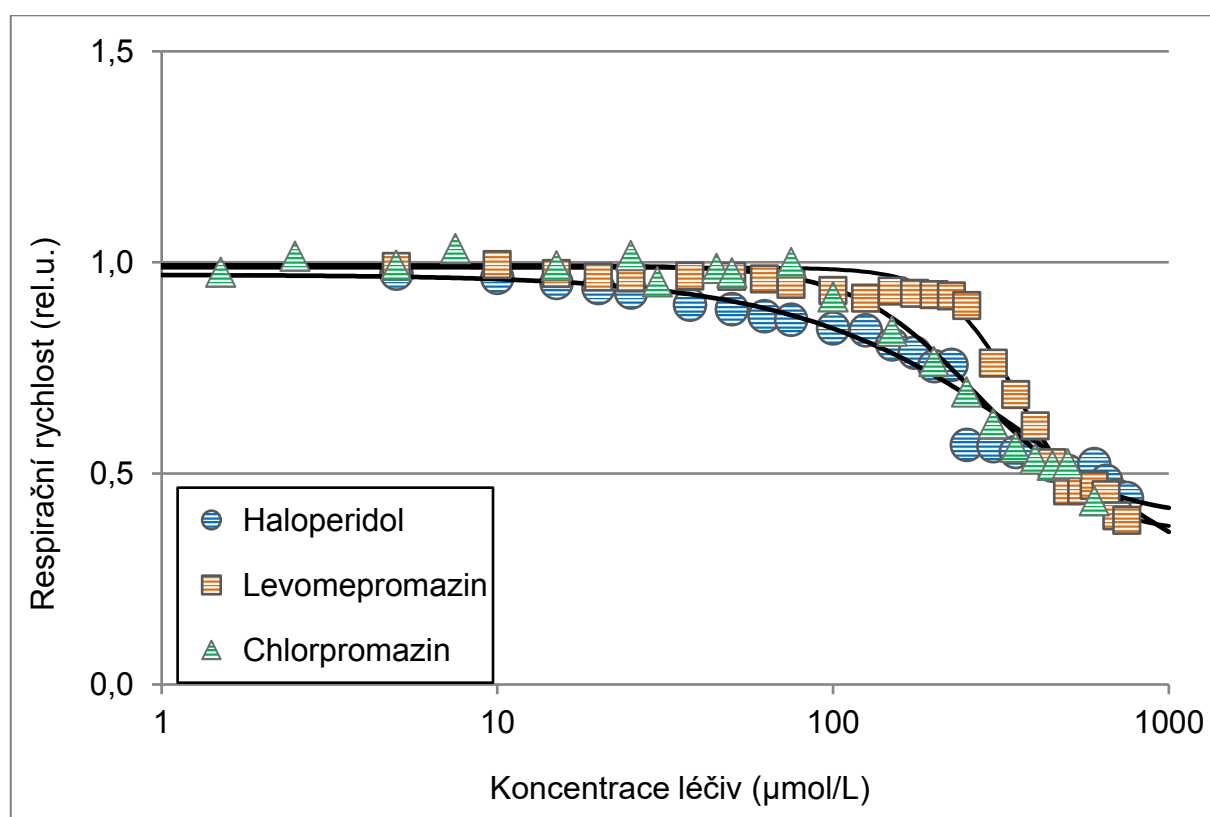
Graf 2A: Vliv typických antipsychotik na respirační rychlost spojenou s komplexem I



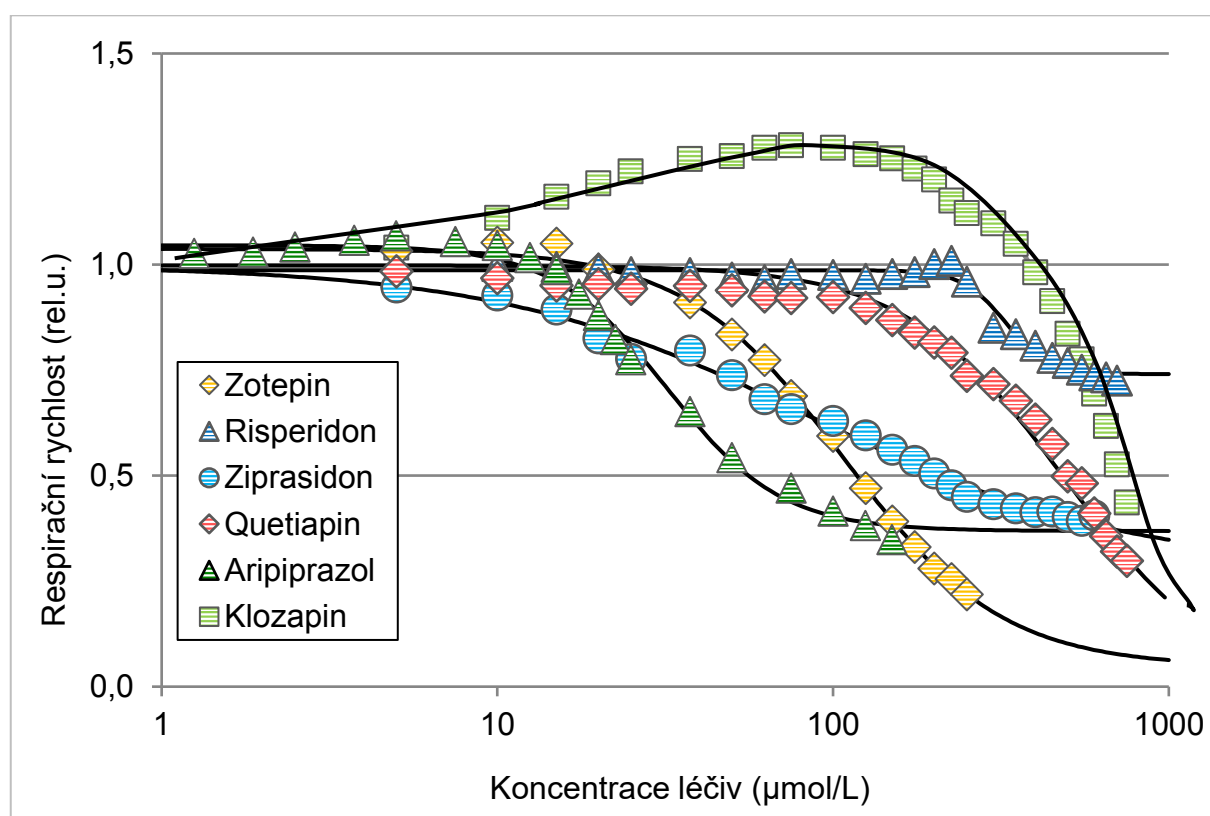
Graf 2B: Vliv atypických antipsychotik na respirační rychlost spojenou s komplexem I



Graf 3A: Vliv typických antipsychotik na respirační rychlost spojenou s komplexem II



Graf 3B: Vliv atypických antipsychotik na respirační rychlost spojenou s komplexem II

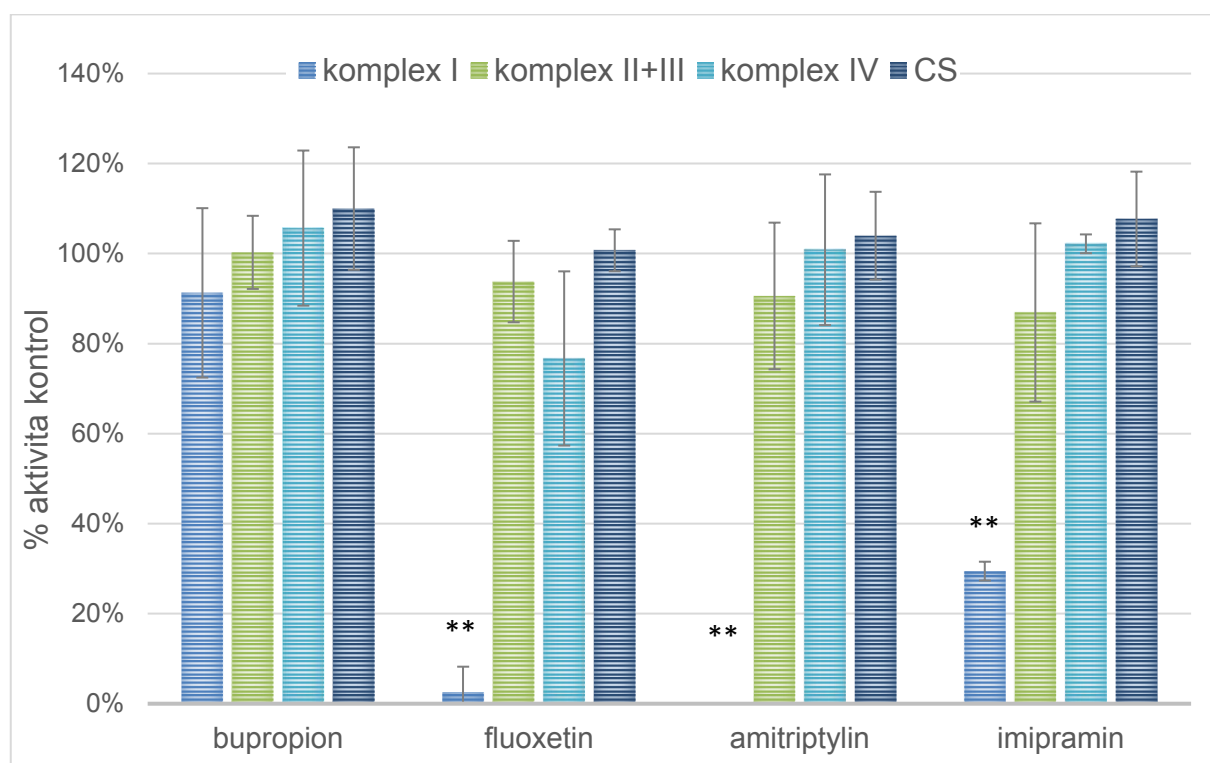


## 4.2 Antidepresiva

### Aktivita citrátsyntázy a enzymatických komplexů ETC

Komplex I byl nejcitlivější na expozici antidepresivy (graf 4). Statisticky významná inhibice byla pozorována po expozici fluoxetinem, amitriptylinem a imipraminem. Žádné z testovaných léčiv statisticky významně neovlivnilo aktivitu CS a komplexů II + III a IV (graf 4).

Graf 4: Vliv antidepresiv na enzymatické komplexy ETC



Hladina statistické významnosti (p-hodnota) byla vypočtena pomocí Wilcoxonova testu (\*  $p < 0,05$ ; \*\*  $p < 0,01$ )

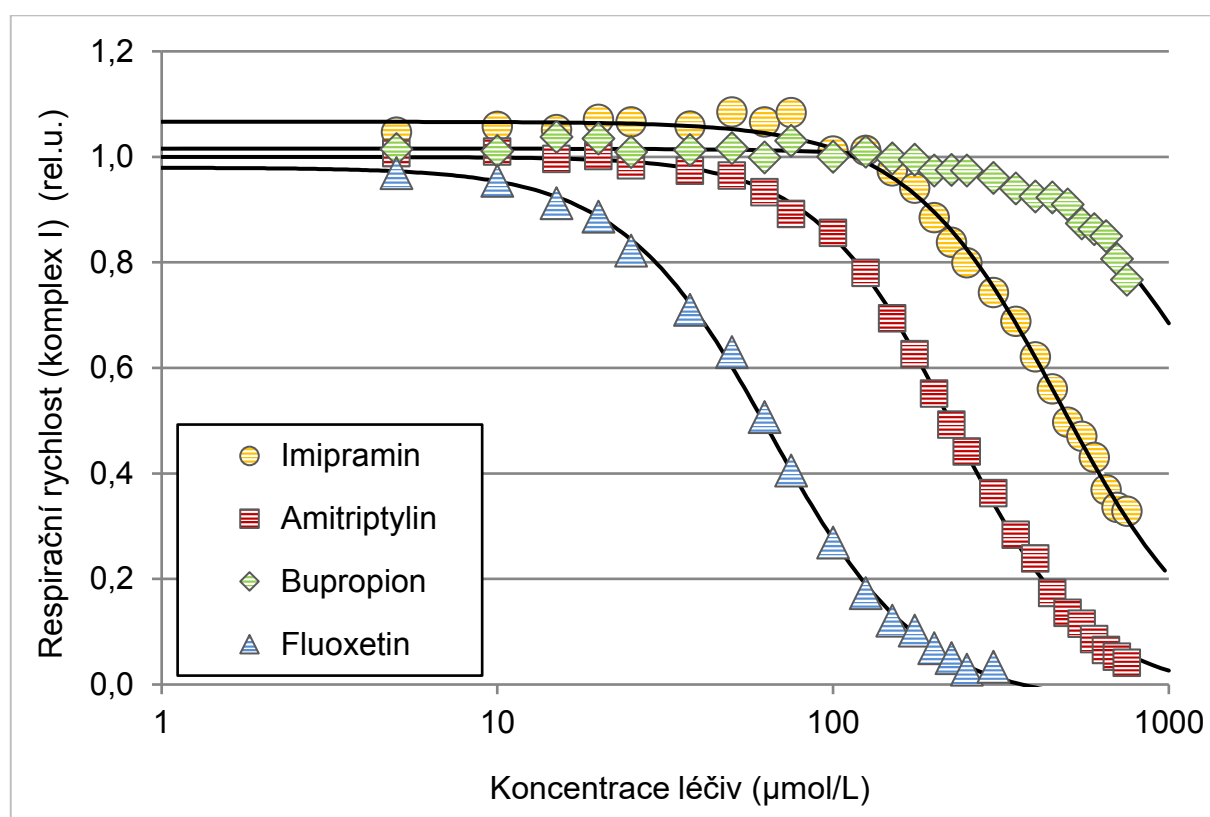
### Mitochondriální respirace

Inhibiční účinky testovaných antidepresiv jsou uvedeny v grafu 5 a 6. Parametry charakterizující sílu a typ inhibice jsou uvedeny v tabulkách 1 a 2.

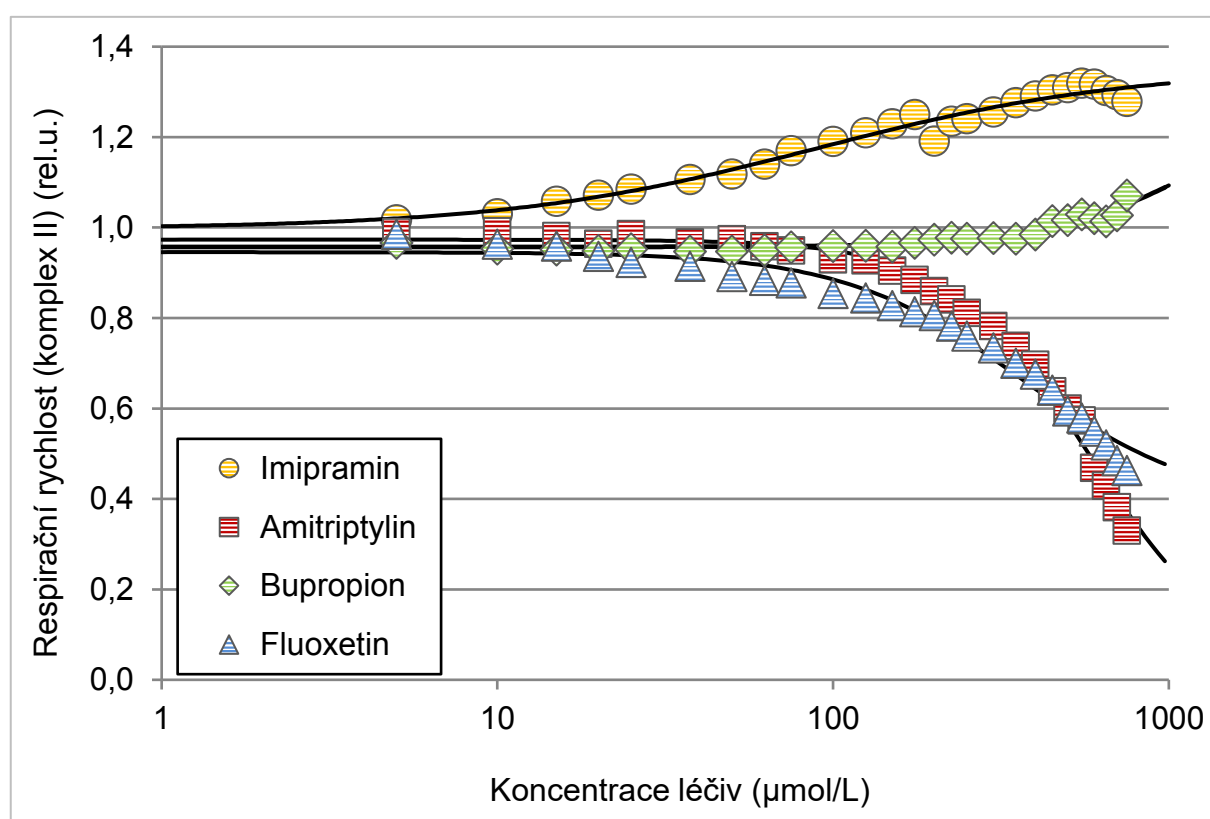
Mitochondriální respirace spojená s komplexem I byla silně inhibována bupropionem, fluoxetinem, amitriptylinem a imipraminem s  $IC_{50} = 1486.6 \pm 137.8$ ;  $65.5 \pm 1.9$ ;  $226.1 \pm 4.0$  a  $473.1 \pm 9.7 \mu\text{mol/L}$ . Tato léčiva vykazovala plnou inhibici mitochondriální respirace spojenou s komplexem I. Fluoxetin inhiboval pouze v koncentracích do  $250 \mu\text{mol/L}$ . Bupropion, amitriptylin a imipramin vykazovaly úplnou inhibici, ale až při vyšších koncentracích ( $750 \mu\text{mol/L}$ ) (graf 5).

Významná inhibice mitochondriální respirace spojené s komplexem II byla pozorována po expozici amitriptylinem ( $IC_{50} = 582.4 \pm 96.6 \mu\text{mol/L}$ ), který lze označit jako plný inhibitor. Fluoxetin částečně inhiboval buněčné dýchání spojené s komplexem II (graf 6).

Graf 5: Vliv antidepresiv na respirační rychlost spojenou s komplexem I



Graf 6: Vliv antidepresiv na respirační rychlost spojenou s komplexem II



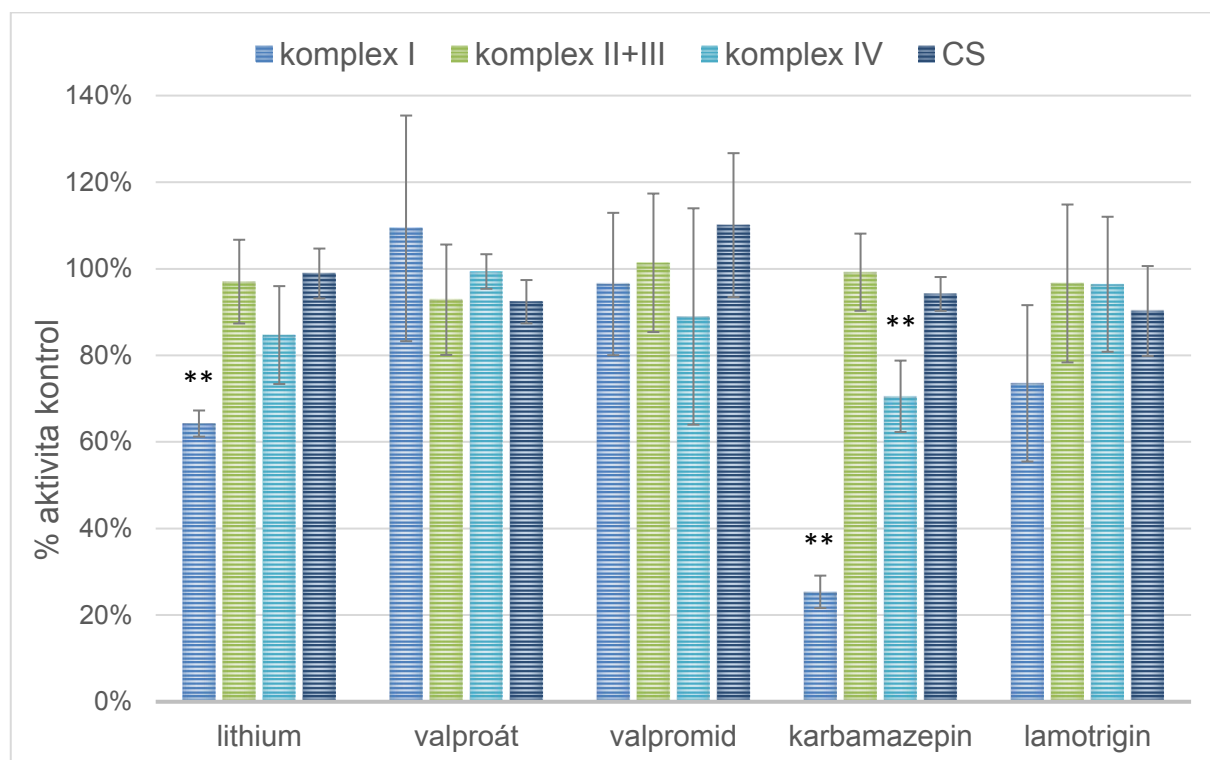


### 4.3 Stabilizátory nálady

#### Aktivita citrát syntázy a enzymatických komplexů ETC

Výrazná inhibice komplexu I byla pozorována vlivem lithia a karbamazepinu. Valproát a valpromid nijak neovlivňovali aktivitu komplexu I (graf 7). Aktivitu komplexu II+III neovlivňovalo žádné z testovaných léčiv. Aktivita komplexu IV byla statisticky významně inhibována jen karbamazepinem (graf 7).

Graf 7: Vliv stabilizátorů nálady na enzymatické komplexy ETC



Hladina statistické významnosti (p-hodnota) byla vypočtena pomocí Wilcoxonova testu (\*  $p < 0,05$ ; \*\*  $p < 0,01$ )

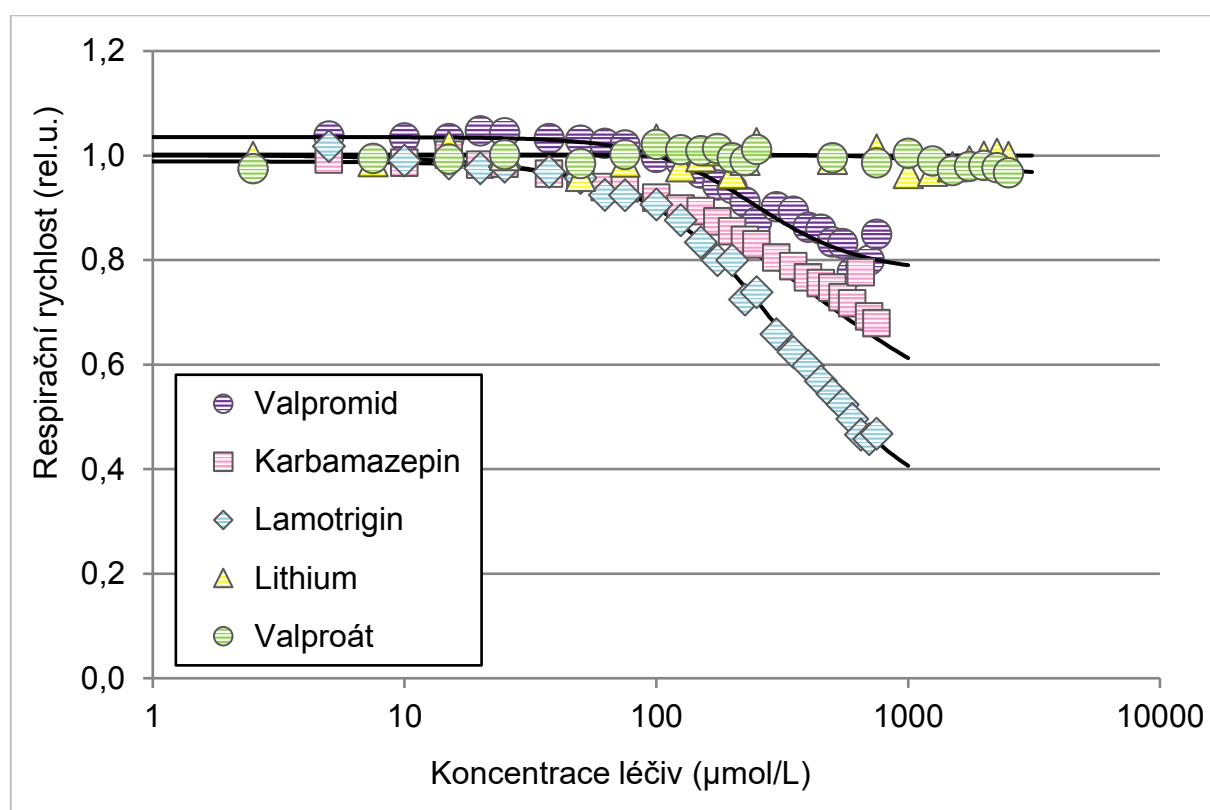
#### Mitochondriální respirace

Valpromid, karbamazepin a lamotrigin ( $IC_{50} = 245.1 \pm 41.0$ ;  $432.1 \pm 351.6$  a  $332.4 \pm 86.9$   $\mu\text{mol/L}$ ) působily na buněčné dýchání spojené s komplexem I jako parciální inhibitory (při 750  $\mu\text{mol/L}$ ) (graf 8). Inhibiční účinky lithia a valproátu na mitochondriální respiraci spojenou s komplexem I byly popsány dříve (Hroudova and Fisar 2012).

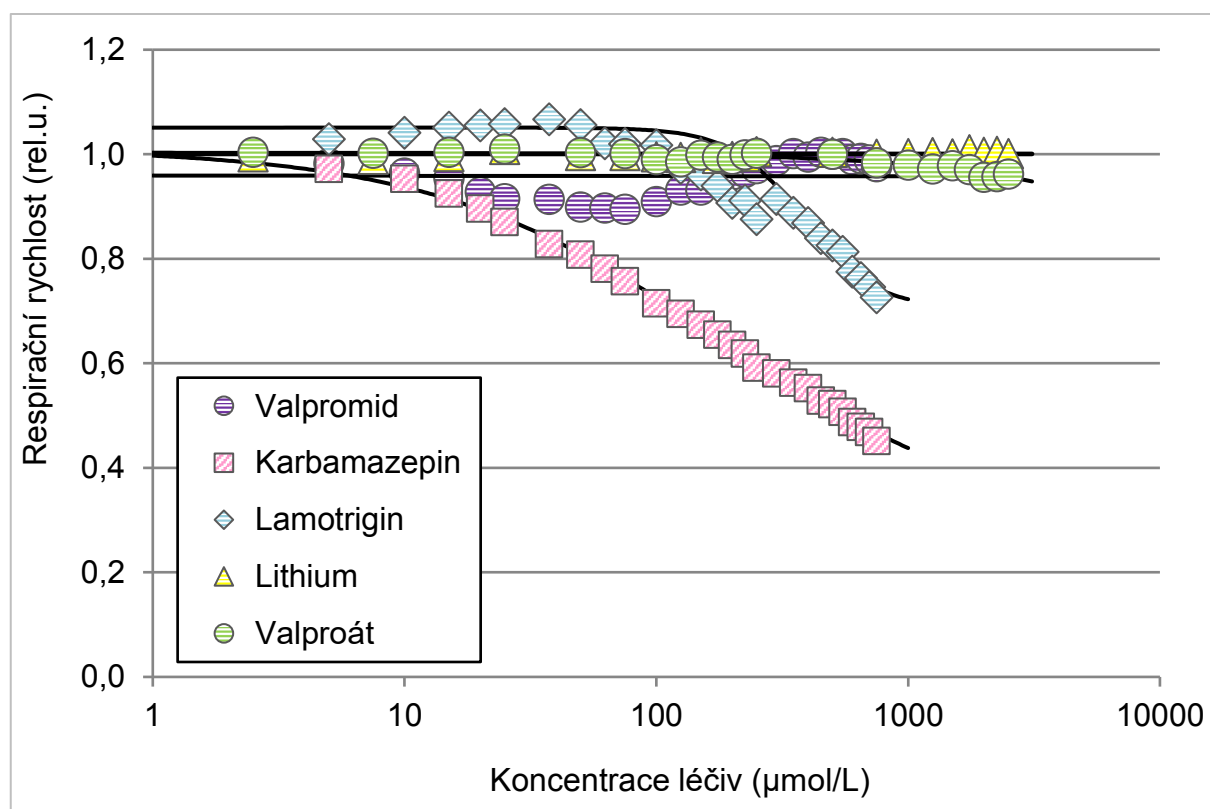
Karbamazepin ( $IC_{50} = 181.8 \pm 90.0$   $\mu\text{mol/L}$ ) a lamotrigin ( $IC_{50} = 380.8 \pm 120.2$   $\mu\text{mol/L}$ ) částečně inhibovaly mitochondriální dýchání spojené s komplexem II (graf 9). Inhibiční účinky lithia a valproátu na mitochondriální respiraci spojenou s komplexem II byly publikovány již dříve (Hroudova and Fisar 2012).

Parametry charakterizující sílu inhibice jsou shrnuty v tabulce 1 a 2.

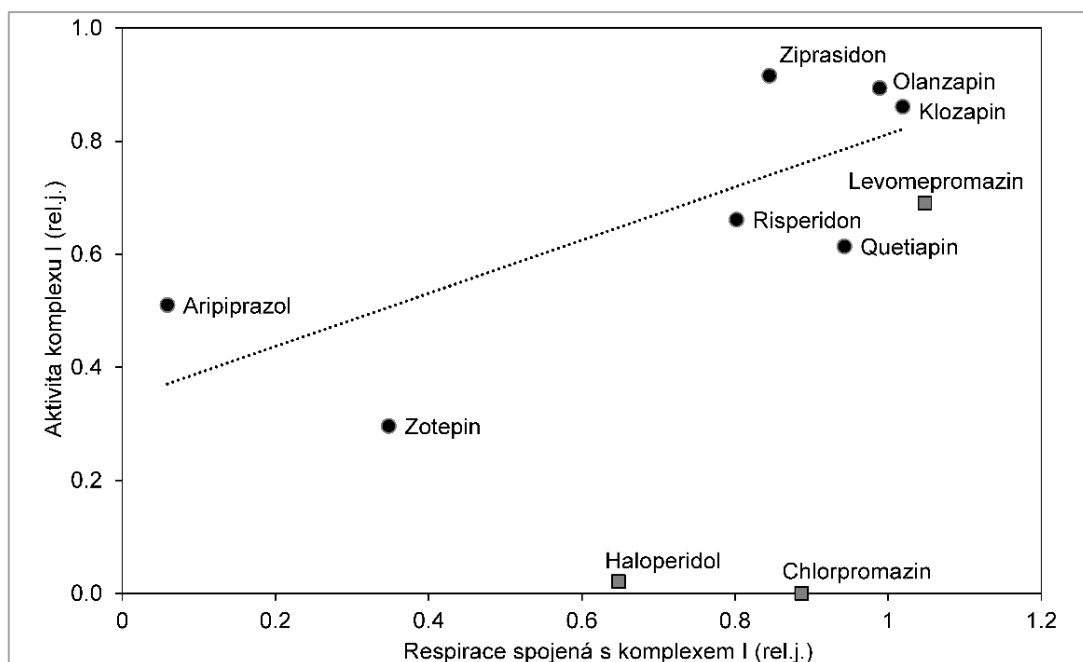
Graf 8: Vliv stabilizátorů nálady na respirační rychlost spojenou s komplexem I



Graf 9: Vliv stabilizátorů nálady na respirační rychlost spojenou s komplexem II

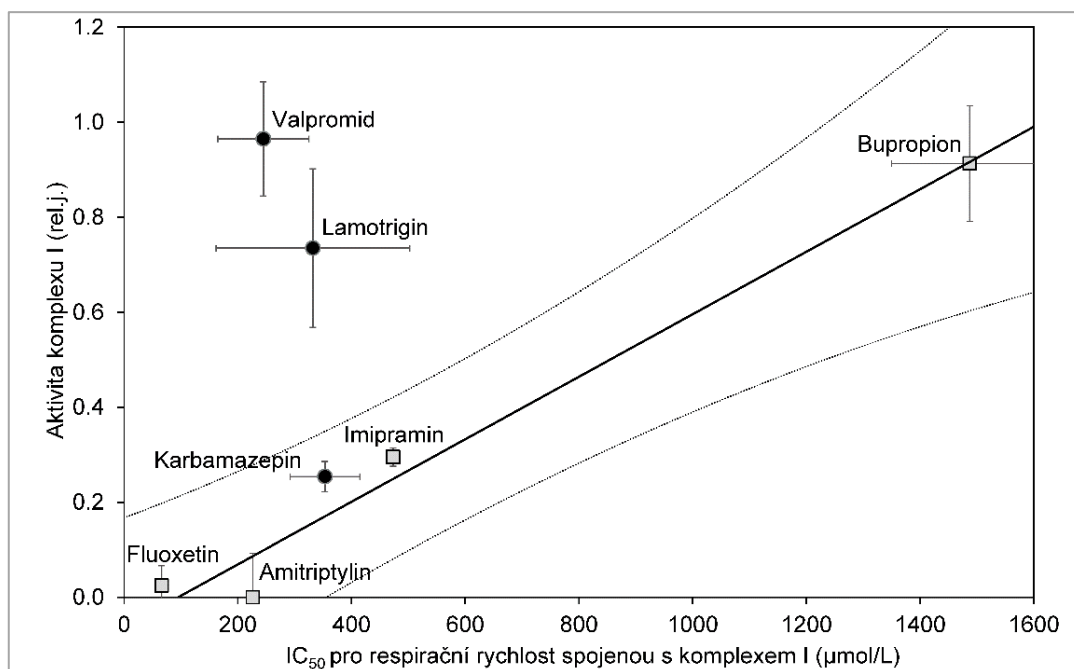


Graf 10: Korelace aktivity komplexu I s respirometrií spojené s komplexem I po expozici antipsychotiky



Korelace relativní aktivity komplexu I v konečné koncentraci 50  $\mu\text{mol/L}$  a respirací spojené s komplexem I po přidání antipsychotik. Tečkovaná křivka znázorňuje korelaci pro vybraná antipsychotika ( $r = 0,753$ ,  $p = 0,051$ ,  $N = 7$ ).

Graf 11: Korelace relativní aktivity komplexu I s hodnotami  $\text{IC}_{50}$  u antidepresiv a stabilizátorů nálady



Korelace relativní aktivity komplexu I v konečné koncentraci 50  $\mu\text{mol/L}$  a hodnotami  $\text{IC}_{50}$  stanovené na základě respirometrie spojené s komplexem I po expozici antidepresivy a stabilizátory nálady. Křivka znázorňuje jednoduchou lineární regresi pro antidepresiva s 95% intervalem spolehlivosti (korelační koeficient  $r = 0,989$ ,  $p = 0,011$ ,  $N = 4$ ). Tečkované křivky znázorňují konfidenční rozmezí.

Tabulka 1: Inhibice mitochondriální respirace spojené s komplexem I po expozici testovanými léčivy

Léčivo	IC <sub>50</sub> (μmol/L)	Reziduální aktivita (rel.u.)	Sklon křivky	N	Inhibice	Koncentrace léčiva (μmol/L)	Léčivo/ rotenon
Chlorpromazin*	116 ± 11	0.530 ± 0.025	1.67 ± 0.19	8	Parciální	0.5-500	3222
Levomepromazin	336 ± 17	0.296 ± 0.041	-3.34 ± 0.49	3	Parciální	5-750	9333
Haloperidol	64.9 ± 4.6	-0.015 ± 0.045	-2.25 ± 0.31	3	Plná	5-225	1803
Risperidon	263 ± 26	-0.010 ± 0.029	-0.84 ± 0.06	3	Plná	5-750	7305
Zotepin	39.5 ± 2.7	-0.004 ± 0.056	-2.43 ± 0.32	7	Plná	5-188	1097
Ziprasidon	188 ± 27	0.209 ± 0.066	-1.52 ± 0.28	3	Parciální	5-750	5222
Aripiprazol	13.1 ± 1.3	-0.016 ± 0.056	-1.85 ± 0.29	3	Plná	0.6-150	364
Klozapin	281 ± 26	0.167 ± 0.071	-3.09 ± 0.71	3	Parciální	5-750	7805
Olanzapin	198 ± 221	0.964 ± 0.024	1.55 ± 1.50	9	Parciální, slabá	0.5-750	5500
Quetiapin	424 ± 17	-0.045 ± 0.028	-1.95 ± 0.11	3	Plná	5-750	11778
Imipramin	473 ± 10	0.003 ± 0.016	-1.92 ± 0.06	6	Plná	5-750	13140
Amitriptylin	226 ± 4	-0.014 ± 0.011	-2.14 ± 0.07	3	Plná	5-750	6280
Bupropion	1487 ± 138	-	-	6	Parciální	5-750	41294
Fluoxetin	66 ± 2	-0.035 ± 0.019	-1.94 ± 0.10	3	Plná	5-300	1819
Valpromid	245 ± 41	0.777 ± 0.035	-2.05 ± 0.49	5	Parciální	5-700	6807
Karbamazepin	353 ± 31	0.439 ± 0.028	-1.46 ± 0.15	4	Parciální	5-750	9806
Lamotrigin	332 ± 87	0.304 ± 0.125	-1.58 ± 0.35	10	Parciální	5-750	9235
*Lithium	-	0.998	-	8	Žádná	2.5-2500	-
*Valproát	-	0.964 ± 0.044	-	7	Žádná	2.5-2500	-

\* Inhibiční parametry chlorpromazinu, lithia a valproátu byly použity z dřívější studie (Hroudova and Fisar 2012).

Pozn.: Z důvodu velmi slabé inhibice bupropionu byla hodnota IC<sub>50</sub> byla stanovena pouze přibližně.

Hodnoty jsou zprůměrovány ± standardní odchylka; IC<sub>50</sub> – poloviční inhibiční koncentrace, N – počet měření, reziduální aktivita – reziduální aktivita při vysoké koncentraci, poměr Léčivo/rotenon představuje poměr hodnot IC<sub>50</sub> testovaných léčiv a IC<sub>50</sub> rotenonu. Hodnota IC<sub>50</sub> rotenonu byla použita z dřívějšího experimentu (Fišar et al. 2017).

Tabulka 2: Inhibice mitochondriální respirace spojené s komplexem II po expozici testovanými léčivy

Léčivo	IC <sub>50</sub> (μmol/L)	Reziduální aktivita (rel.u.)	Sklon křivky	N	Inhibice	Koncentrace léčiva (μmol/L)	Léčivo/ antimycin A
Chlorpromazin*	263	0.395	2.38 ±	10	Parciální	0.5-600	42147
Levomepromazin	359	0.365	-3.90 ±	6	Parciální	5-750	57532
Haloperidol	467	0.106	-1.14 ±	6	Parciální	5-750	74840
Risperidon	326	0.740	-6.69 ±	3	Parciální	5-700	52244
Zotepin	107	0.047	-1.84 ±	6	Plná	5-250	17147
Ziprasidon	86	0.280	-0.92 ±	3	Parciální	5-600	13782
Aripiprazol	32.0	0.369	-2.54 ±	3	Parciální	0.6-150	5128
Klozapin	650	-0.001	-3.28 ±	3	Plná	5-750	104167
Olanzapin	419	0.878	2.16 ±	7	Parciální, slabá	0.5-500	67147
Quetiapin	491	-0.015	-1.83 ±	3	Plná	5-750	78686
Imipramin	-	-	-	3	Žádná; opačná tendence	5-750	-
Amitriptylin	582 ± 97	0.018 ± 0.144	-2.08 ± 0.47	5	Plná	5-750	93340
Bupropion	-	-	-	4	Žádná	5-750	-
Fluoxetin	366 ± 65	0.382 ± 0.062	-1.64 ± 0.35	5	Parciální	5-300	58695
Valpromid	-	-	-	3	Žádná	5-700	-
Karbamazepin	182 ± 90	0.278 ± 0.132	-0.75 ± 0.17	4	Parciální	5-750	29142
Lamotrigin	381 ± 120	0.705 ± 0.125	-3.04 ± 2.03	7	Parciální	5-750	61033
*Lithium	-	1.001 ± 0.000	-	8	Žádná	2.5-5000	-
*Valproát	-	-	-	7	Žádná	2.5-2500	-

\* Inhibiční parametry chlorpromazinu, lithia a valproátu byly použity z dřívější studie (Hroudova and Fisar 2012).

Hodnoty jsou zprůměrovány ± standardní odchylka; IC<sub>50</sub> – poloviční inhibiční koncentrace, N – počet měření, reziduální aktivita – reziduální aktivita při vysoké koncentraci, poměr Léčivo/antimycin představuje poměr hodnot IC<sub>50</sub> stanovených pro testovaná léčiva a IC<sub>50</sub> antimycinu A. Hodnota IC<sub>50</sub> pro antimycin A byla použita z dřívějšího experimentu (Fišar et al. 2017).

## 5. Diskuze

Byly zkoumány *in vitro* účinky farmakologicky odlišných antipsychotik, antidepresiv a stabilizátorů nálady na energetický metabolismus buňky. Byly studovány jak aktivity enzymatických komplexů ETC a CS, tak mitochondriální respirační rychlosti s cílem potvrdit hypotézu, že léčiva užívaná v terapii BAP zasahují do energetického metabolismu buňky. Předpokládá se, že změny mitochondriálních funkcí navozené vybranými léčivy mohou souviset s jejich vedlejšími či terapeutickými účinky; *in vivo* změny mitochondriálních funkcí vyvolané testovanými látkami nebyly předmětem této studie.

Enzymatický komplex I byl zkoušenými psychofarmaky nejvýrazněji ovlivněn, řada látek vykazovala inhibiční účinky. Tento komplex (NADH dehydrogenáza) má pro průběh oxidační fosforylace klíčovou roli (již popsáno výše) a změny v jeho aktivitě mohou vést k celkové inhibici energetického metabolismu buňky a následným změnám v neuronální aktivitě (Pathak and Davey 2008). Pro naše měření byly použity vysoké koncentrace léčiv (50  $\mu\text{mol/L}$ ), z toho vyplývá, že mitochondriální toxicita přichází v úvahu až při předávkování, nikoliv při terapeutickém dávkování psychofarmak.

Pro naše experimenty byly používány mitochondrie izolované z šedé kůry mozkové prasat. Pro farmakologické studie je častěji využíván jako zvířecí model potkan. Pro účely výzkumu mitochondriálního energetického metabolismu mohou být však prasečí mitochondrie vhodnější (Hroudova and Fisar 2010).

### 5.1 Antipsychotika

Chlorpromazin, haloperidol, risperidon a quetiapin statisticky významně snižovaly aktivitu komplexu I; olanzapin a klozapin velmi mírně inhibovaly komplex I (graf 1A, 1B). Naše výsledky *in vitro* vlivu antipsychotik na aktivitu komplexu I korespondují s obdobnou *in vitro* studií na hepatálních mitochondriích potkana, ve kterých typická antipsychotika indukovala na dávce závislou inhibici komplexu I, zatímco atypická antipsychotika risperidon a quetiapin inhibovala komplex I v přibližně 2-4krát vyšších koncentracích než typická antipsychotika. Olanzapin a klozapin vyvolaly mírnou inhibici komplexu při koncentraci 200  $\mu\text{mol/L}$  (Modica-Napolitano et al. 2003).

Chlorpromazin byl studován v naší laboratoři již dříve a působil jako výrazný inhibitor celého energetického metabolismu buňky. Nesnižoval pouze aktivitu složek enzymatických komplexů ETC, ale celkově inhiboval mitochondriální respiraci (Hroudova and Fisar 2012).

Naše data ze spektrofotometrických měření vlivu antipsychotik na enzymatický komplex I korespondují s respiometrickými daty. Korelace mezi relativní aktivitou komplexu I ve finální koncentraci 50  $\mu\text{mol/L}$  a respiometrií spojenou s komplexem I jsou uvedeny v grafu 10. U každého antipsychotika je znázorněn 95 % konfidenční interval. Tečkovaná křivka znázorňuje korelaci pro vybraná antipsychotika ( $r = 0,753$ ,  $p = 0,051$ ,  $N = 7$ ).

Haloperidol, zotepin a aripiprazol v koncentracích 250  $\mu\text{mol/L}$  významně inhibovaly mitochondriální dýchání spojené s komplexem I. Další testovaná antipsychotika (levomepromazin, klozapin, quetiapin, ziprasidon a risperidon) prokázala inhibiční účinky až při vyšších koncentracích (750  $\mu\text{mol/L}$ ). Výrazný inhibiční efekt chlorpromazinu byl popsán již dříve (Hroudova and Fisar 2012). Podobné výsledky byly popsány ve studii s ovariálními mitochondriemi potkanů, kde chlorpromazin, haloperidol, risperidon a klozapin negativně ovlivňovaly produkci ATP (v závislosti na koncentraci léčiva), což vedlo k významnému zvýšení produkce laktátu, snížení aktivity mitochondriálního komplexu I, poklesu aerobního metabolismu (systému OXPHOS) a výraznému snížení potenciálu vnitřní mitochondriální membrány (Elmorsy et al. 2017).

Zotepin, aripiprazol, risperidon a quetiapin významně inhibovaly aktivitu enzymatických komplexů II + III (graf 1B). Klozapin a zotepin plně inhibovaly mitochondriální dýchání podporované sukcinátem (graf 3B). Ostatní testovaná antipsychotika výrazně snižovala rychlost mitochondriální spotřeby kyslíku komplexem II až při vyšších koncentracích (750  $\mu\text{mol/L}$ ). Tato antipsychotika lze označit za parciální inhibitory mitochondriální respirace spojené s komplexem II. Olanzapin významně zvýšil mitochondriální respiraci spojenou s komplexem II už při nižších koncentracích ( $10^1$   $\mu\text{mol/L}$ ). Při spektrofotometrických měřeních olanzapin významně neovlivnil aktivity jednotlivých mitochondriálních enzymů. Ve studii na mitochondriích izolovaných z mozků potkanů klozapin signifikantně inhiboval komplex III, u haloperidolu (v koncentracích 18  $\mu\text{mol/L}$ ) nebyl pozorován žádný významný efekt (Burkhardt et al. 1993). Další studie provedená na mitochondriích v ovariálních buňkách potkanů ve spektrofotometrickém měření prokázala inhibiční účinek haloperidolu (v koncentraci 21  $\mu\text{mol/L}$ ) a chlorpromazinu (v koncentraci 6  $\mu\text{mol/L}$ ) na mitochondriální komplex III. Studie zjistila obecně inhibiční účinky zkoumaných antipsychotik na buněčnou bioenergetiku (Elmorsy et al. 2017; Spinazzi et al. 2012).

Komplex IV představovaný cytochrom c oxidázou (COX) je často považován za endogenní metabolický marker neuronální aktivity (Wong-Riley 1989). Antipsychotika chlorpromazin, levomepromazin a zotepin významně inhibovala aktivitu komplexu IV; quetiapin naopak vykazoval aktivační účinek (graf 1A, 1B). Naše data jsou v souladu se studií, kde haloperidol, olanzapin, klozapin a aripiprazol významně neovlivnily aktivitu komplexu IV (Streck et al. 2007). Avšak v *in vitro* experimentu na cerebrálních mitochondriích potkana byl komplex IV statisticky významně inhibován klozapinem. V další studii po chronickém podávání haloperidolu a olanzapinu nebyla významně ovlivněna exprese podjednotek COX v mozcích potkanů (Rice et al. 2014). Chlorpromazin selektivně a významně inhiboval růst a proliferaci gliomových buněk změnou exprese regulační podjednotky COX4-1. Chlorpromazin by tak mohl být v budoucnu použit k léčbě chemorezistentního gliomu na základě antiproliferativní aktivity prostřednictvím inhibice aktivity komplexu IV (Oliva et al. 2017).

CS je důležitý mitochondriální enzym, který je odpovědný za regulační funkci v energetickém metabolismu buňky. Nachází se v mitochondriální matrix a jako součást Krebsova cyklu ho spojuje s respiračním řetězcem (Srere 1969). Aktivita CS v našich měřeních

nebyla testovanými antipsychotiky významně ovlivněna (graf 1A, 1B). Ve studii na PC12 buňkách aripiprazol zvyšoval aktivitu CS, zatímco klozapin a haloperidol neměly žádný vliv (Ota et al. 2012). Efekt olanzapinu na CS byl odlišný v závislosti na akutním a chronickém podání potkanům. Akutní léčba olanzapinem (3 nebo 6 mg/kg) zvyšovala aktivitu CS v prefrontální kůře, striatu a hippocampu; chronické podávání olanzapinu nijak aktivitu CS neovlivnilo (Agostinho et al. 2011b).

Účinné koncentrace antipsychotik v našich experimentech byly o 2 až 3 číselné řády vyšší, než jsou jejich terapeutické koncentrace v séru. Naše měření spíše simulují vliv antipsychotik při toxických hladinách po akutním podání.

## 5.2 Antidepresiva

Signifikantní inhibice komplexu I byla pozorována po expozici fluoxetinem, amitriptylinem a imipraminem (graf 4). Amitriptylin a imipramin byly zkoumány již dříve a nyní byly výsledky potvrzeny (Hroudova and Fisar 2010). U antidepresiv lze pozorovat souvislost mezi poklesem respirace spojené s komplexem I a sníženou aktivitou komplexu I ve spektrofotometrickém měření (graf 11). Mitochondriální respirace spojená s komplexem I byla silně inhibována fluoxetinem, amitriptylinem a imipraminem. Bupropion parciálně inhiboval respiraci spojenou s komplexem I až při vyšších koncentracích (graf 5).

Na základě spektrofotometrických měření aktivit komplexů II + III jsme nepozorovali žádné významné změny po expozici antidepresivy (graf 4). V dřívějším experimentu byla měřena aktivita enzymatického komplexu II, která byla hodnocena při 10krát vyšších koncentracích antidepresiv. Aktivita komplexu II byla významně inhibována po expozici amitriptylinem a imipraminem (Hroudova and Fisar 2010). V této studii jsme měřili společnou aktivitu komplexů II + III, což může být také příčina rozdílných výsledků – amitriptylin a imipramin inhibovaly komplexy II+III bez statistické významnosti. Mitochondriální respirace spojená s komplexem II byla plně inhibována amitriptylinem a částečně inhibována fluoxetinem (graf 6), což v případě fluoxetinu a amitriptylinu koreluje s předchozími a dalšími dostupnými studiemi (de Oliveira 2016; Hroudova and Fisar 2012).

V našich měřeních byl enzymatický komplex IV inhibován pouze fluoxetinem (bez statistické významnosti). Ve studii provedené na mitochondriích izolovaných z potkaních srdcí fluoxetin vykazoval nejvýraznější inhibiční účinky na komplex IV. Norfluoxetin (aktivní metabolit fluoxetinu) při koncentracích 20 - 50  $\mu\text{mol/L}$  po dobu 18 hodin významně snižoval aktivitu mitochondriálních komplexů (I, II + III a IV), mitochondriální respiraci a membránový potenciál při koncentracích nad 10  $\mu\text{mol/L}$  (Abdel-Razaq et al. 2011). Avšak akutní a chronická expozice fluoxetinem (24 hodin vs. 28 dnů) měla variabilní dopad na aktivitu komplexů ETC v hippocampu. Akutní podávání fluoxetinu indukovalo aktivitu komplexu I a po 28 dnech expozice fluoxetinem byla pozorována inhibice komplexu IV (Agostinho et al. 2011a).

Aktivita CS nebyla vlivem žádného z antidepresiv významně změněna (graf 4), což potvrdilo význam měření aktivity tohoto enzymu jako přímého ukazatele funkce izolovaných mitochondrií.



Antidepresiva (amitriptylin, imipramin, fluoxetin a bupropion) byla podobně jako antipsychotika měřena v koncentracích o 2 až 3 řády vyšší než jsou jejich terapeutické koncentrace v séru. Mozkové koncentrace antidepresiv však mohou být řádově vyšší než plazmatické koncentrace (Fisar et al. 1996), což naznačuje možný podíl mitochondriální toxicity při procesech souvisejících s předávkováním.

### 5.3 Stabilizátory nálady

Statisticky významná inhibice komplexu I byla prokázána po expozici lithiem a karbamazepinem (graf 7).

Valpromid, karbamazepin a lamotrigin působily na mitochondriální respiraci spojenou s komplexem I jako parciální inhibitory až při vyšších koncentracích (750  $\mu\text{mol/L}$ ) (graf 8). Byla spočítána korelace relativní aktivity komplexu I s hodnotami  $\text{IC}_{50}$ , kde křivka znázorňuje jednoduchou lineární regresi pro vybraná psychofarmaka a tečkované křivky znázorňují konfidenční rozmezí (graf 11).

Ve studii na mitochondriích izolovaných z potkaních jater byla sledována mitochondriální toxicita tzv. aromatických antiepileptických léčiv, včetně karbamazepinu. Ze závěrů studie vyplývá, že karbamazepin a ostatní testovaná antiepileptika negativně ovlivňují mitochondriální funkce, inhibují mitochondriální respiraci, syntézu ATP, membránový potenciál a narušují vápníkovou homeostázu (Santos et al. 2008). Ve studii, kde karbamazepin vykazoval neuroprotektivní účinek proti rotenonem-indukované neuronální dysfunkci, byl prokázán nízký inhibiční efekt na mitochondriální respiraci podporovanou malátem a pyruvátem, tzn. respiraci spojenou s komplexem I (Costa et al. 2008).

V naší dřívější studii byl pozorován inhibiční vliv valproátu na aktivitu komplexu I v koncentraci 5  $\text{mmol/L}$ , což jsme v nynějším experimentu při nižších koncentracích (50  $\mu\text{mol/L}$ ) nepotvrdili. Nějakou roli v nejednotnosti výsledků v provedených experimentech může hrát i odlišný způsob přípravy mitochondrií. Dříve byly mitochondrie připravovány odlišným způsobem (Hroudova and Fisar 2010).

Podobně byl pozorován inhibiční účinek po expozici lithiem (Hroudova and Fisar 2010). Efekt lithia byl sledován v *in vivo* studii provedené na leukocytech, kde lithium s přímou úměrou s hladinami v plazmě zvyšovalo aktivitu komplexu I v akutních depresivních epizodách u pacientů s BAP (de Sousa et al. 2014). V experimentu na postmortem mozkové kůře člověka byla zaznamenána zvýšená aktivita enzymatických komplexů ETC (I + III, II + III) po expozici lithiem v terapeutických koncentracích (až do 10  $\text{mmol/L}$ ) (Maurer et al. 2009). Naše měření odrážejí také přímé účinky akutní expozice lithia, avšak na izolované mitochondrie, což může hrát zásadní roli v odlišnosti výsledků v *in vivo* studiích, bez ohledu na změnu v energetickém metabolismu buňky při probíhající BAP.

Aktivita komplexu II + III se po expozici stabilizátory nálady významně nezměnila (graf 7). Mitochondriální respirace spojená s komplexem II byla inhibována karbamazepinem a lamotriginem (graf 9).

Ze stabilizátorů nálady pouze karbamazepin signifikantně snižoval aktivitu komplexu IV (graf 7). V *in vivo* studii byl karbamazepin testován na homogenátech lymfocytů u dětí, kde inhiboval všechny mitochondriální komplexy, včetně komplexu IV (Berger et al. 2010). Valproát v našem experimentu významně neovlivňoval aktivitu komplexu IV, což není v souladu s jinými dostupnými studiemi, kde byl popisován jeho inhibiční efekt na enzymatický komplex IV (Hroudova and Fisar 2010; Ponchaut et al. 1991; Ponchaut et al. 1992). Důvodem nekonzistentních výsledků mohou být různé koncentrace léčiva, jiný experimentální biologický model či odlišné experimentální podmínky.

Aktivita CS nebyla testovanými stabilizátory nálady významně ovlivněna (graf 7).

Naše měření simulují akutní podání léčiva a nereflektují *in vivo* účinek léčiv při dlouhodobém podávání. Léčiva indikovaná pro BAP (lithium, valproát, valpromid, lamotrigin a karbamazepin) byla měřena v koncentracích odpovídajících terapeutickým koncentracím léčiva v séru (desítky až stovky  $\mu\text{mol/L}$ ).

Ovlivnění aktivit enzymatických komplexů ETC či změna rychlosti mitochondriální respirace mohou souviset etiopatogenezí BAP a také s terapií BAP, se kterou jsou spojeny také nežádoucí účinky (viz výše) (Kim et al. 2008; Silva et al. 2008; Taylor and MacQueen 2006).

#### **5.4 Souvislost změny mitochondriálního metabolismu a vedlejších účinků léčiv**

Na základě našich dat a již prokázané evidenci prodloužených QTc intervalů u řady psychofarmak jsme zaznamenali souvislost mezi inhibicí komplexu I a prodloužením intervalu QTc. Inhibice komplexu I způsobená antipsychotiky v našem měření (graf 1A, 1B) korelovala s antipsychotikou, která mohou vést k prodloužení intervalu QTc (např. chlorpromazin, klozapin, haloperidol, risperidon, quetiapin a ziprasidon) (Glassman and Bigger 2001; Haddad and Anderson 2002; Taylor 2003; Vieweg 2003). Výjimkou byl ziprasidon, který způsobuje nejvýraznější prodloužení QTc intervalu, neinhiboval aktivitu komplexu I. Quetiapin a haloperidol vyvolaly prodloužení QTc intervalu stejně tak jako inhibici komplexu I (Food 2000). Inhibice komplexu I v našich experimentech byla pozorována i po expozici lithiem, karbamazepinem, fluoxetinem, amitriptylinem a imipraminem (graf 4 a 7). Existují kazuistiky torsade de pointes při terapii tricyklickými antidepresivy (amitriptylin, imipramin). Blokáda draslíkových kanálů by mohla být příčinou vzniku prodlouženého QTc intervalu a následného vyvolání torsade de pointes (Vieweg and Wood 2004). U fluoxetinu, byly publikovány případy s prodlouženým intervalem QTc nebo torsade de pointes po podání fluoxetinu (Lherm et al. 2000; Varriale 2001). K objasnění všech souvislostí mezi prodloužením QTc intervalu a změnami enzymatických aktivit ETC je nutný další výzkum.

Stupeň inhibice komplexu I koreluje s potencií antipsychotik vyvolávat extrapyramidální symptomatiku (Casademont et al. 2007). Snížená aktivita enzymatického komplexu I u pacientů s Parkinsonovou chorobou je dávana do souvislosti s bioenergetickou dysfunkcí a následnou degenerací dopaminergních neuronů (Pathak and Davey 2008). Mezi inhibičním potenciálem léčiv na komplex I a schopností vyvolat extrapyramidové nežádoucí účinky (včetně tardivní dyskineze) lze použít přímou úměru (Modica-Napolitano et al. 2003).

Haloperidol, chlorpromazin a klozapin v *in vitro* studii na mitochondriích mozku potkana vyvolaly inhibici komplexu I. Klozapin v téže studii inhiboval aktivitu komplexu I ve stokrát vyšší koncentraci (180  $\mu\text{mol/L}$ ) a nezpůsobil extrapyramidovou toxicitu na rozdíl od haloperidolu a chlorpromazinu (Burkhardt et al. 1993). V našich měřeních vyšla statisticky významná inhibice komplexu I po expozici chlorpromazinem a haloperidolem, což potvrzuje výsledky předchozích studií. Z atypických antipsychotik významně snižoval aktivitu komplexu I risperidon, zotepin, aripiprazol, klozapin a quetiapin, u těchto antipsychotik je riziko extrapyramidových nežádoucích účinků nižší.

Metabolické nežádoucí účinky antipsychotik (glukózová intolerance, změna lipidového spektra atd.) pravděpodobně souvisí se změnami na úrovni mitochondriálního metabolismu (viz výše). Vedlejší účinky antipsychotik druhé generace jsou spojeny se změnami mitochondriální homeostázy, což vede k nerovnováze v poměru mitochondriální fúze/štěpení a k neefektivnímu mitochondriálnímu fenotypu svalových buněk (Del Campo et al. 2018). Quetiapin v našich měřeních statisticky významně zvyšoval aktivitu komplexu IV. Stejně jako u ostatních atypických antipsychotik, u quetiapinu bylo prokázáno vyšší riziko rozvoje diabetu mellitu a metabolického syndromu než u typických antipsychotik (De Hert et al. 2008). Ve srovnání s olanzapinem, klozapinem a risperidonom vykazuje quetiapin však nejnižší potenci vyvolávat diabetes mellitus (Guo et al. 2006) a stejně tak rozvoj metabolického syndromu (Correll et al. 2007). Ve srovnání s klozapinem a olanzapinem není léčba quetiapinem spojená s tak výrazným přibýváním hmotnosti (Gupta et al. 2004). Souvislost mezi léčbou atypickými antipsychotiky a rozvojem metabolického syndromu by měly být nadále zkoumány.

## 6. Závěr

Z našich experimentů vyplývá, že vybraná léčiva ovlivnila jak aktivitu mitochondriálních enzymů ETC, tak mitochondriální respiraci. Inhibiční efekt testovaných léčiv na mitochondriální funkce se může projevit spíše ve vedlejších než v terapeutických účincích psychofarmak. Na základě našich dat by aktivita těchto enzymů mohla být testována pro predikci rozvoje nežádoucích vedlejších účinků léčiv. Experimentální metody použité v našich *in vitro* studiích lze aplikovat při testování mitochondriální toxicity nově vyvíjených léčiv.

Přesné molekulární mechanismy působení psychofarmak na mitochondriální funkce by měly být dále zkoumány. V dalším klinickém výzkumu je potřeba objasnit, zda mitochondriální změny indukované léčivy souvisejí s klinickými projevy, jako je extrapyramidální syndrom, prodloužení intervalu QTc a metabolický syndrom. Vzhledem ke složitým procesům spojených s aktivitou OXPHOS a celkovým metabolismem mitochondrií je nutné měřit nejen účinek testovaných látek na aktivitu jednotlivých komplexů ETC, ale i na celkovou rychlost mitochondriální spotřeby kyslíku. Pro odhalení příčin mitochondriální dysfunkce vyvolané psychofarmaky je nutné také sledovat související oxidační stres, strukturální změny v mitochondriích, změny ve vápníkové homeostáze a v neposlední řadě změny genetické a epigenetické, jako je zvýšená exprese proapoptogenních genů, mutace a polymorfismy mitochondriálních genů.

## 7. Seznam použité literatury

- AAN HET ROT, M., S. J. MATHEW AND D. S. CHARNEY Neurobiological mechanisms in major depressive disorder. *Cmaj*. 2009; 180(3): 305-313.
- ABDEL-RAZAQ, W., D. A. KENDALL AND T. E. BATES The Effects of Antidepressants on Mitochondrial Function in a Model Cell System and Isolated Mitochondria. *Neurochem Res*. 2011; 36(2): 327-338.
- AGOSTINHO, F. R., G. Z. REUS, R. B. STRINGARI, K. F. RIBEIRO, et al. Olanzapine plus fluoxetine treatment alters mitochondrial respiratory chain activity in the rat brain. *Acta Neuropsychiatrica*. 2011a; 23(6): 282-291.
- AGOSTINHO, F. R., G. Z. RÉUS, R. B. STRINGARI, K. F. RIBEIRO, et al. Treatment with olanzapine, fluoxetine and olanzapine/fluoxetine alters citrate synthase activity in rat brain. *Neurosci Lett*. 2011b; 487(3): 278-281.
- AHMADIAN, E., H. BABAEI, A. MOHAJEL NAYEBI, A. EFTEKHARI, et al. Mechanistic Approach for Toxic Effects of Bupropion in Primary Rat Hepatocytes. *Drug Res (Stuttg)*. 2017; 67(4): 217-222.
- AIRES, C. C., L. IJLST, F. STET, C. PRIP-BUUS, et al. Inhibition of hepatic carnitine palmitoyl-transferase I (CPT 1A) by valproyl-CoA as a possible mechanism of valproate-induced steatosis. *Biochem Pharmacol*. 2010; 79(5): 792-799.
- ANAN, R., M. NAKAGAWA, M. MIYATA, I. HIGUCHI, et al. Cardiac involvement in mitochondrial diseases. A study on 17 patients with documented mitochondrial DNA defects. *Circulation*. 1995; 91(4): 955-961.
- ASCHER, J. A., J. O. COLE, J. N. COLIN, J. P. FEIGHNER, et al. Bupropion: a review of its mechanism of antidepressant activity. *J Clin Psychiatry*. 1995; 56(9): 395-401.
- BENES, F. M., D. MATZILEVICH, R. E. BURKE AND J. WALSH The expression of proapoptosis genes is increased in bipolar disorder, but not in schizophrenia. *Mol Psychiatry*. 2006; 11(3): 241-251.
- BERGER, I., I. SEGAL, D. SHMUELI AND A. SAADA The effect of antiepileptic drugs on mitochondrial activity: a pilot study. *J Child Neurol*. 2010; 25(5): 541-545.
- BERK, M., F. KAPCZINSKI, A. C. ANDREAZZA, O. M. DEAN, et al. Pathways underlying neuroprogression in bipolar disorder: focus on inflammation, oxidative stress and neurotrophic factors. *Neurosci Biobehav Rev*. 2011; 35(3): 804-817.
- BERMAN, R. M., G. SANACORA, A. ANAND, L. M. ROACH, et al. Monoamine depletion in unmedicated depressed subjects. *Biol Psychiatry*. 2002; 51(6): 469-473.
- BOKU, S., S. NAKAGAWA, H. TODA AND A. HISHIMOTO Neural basis of major depressive disorder: Beyond monoamine hypothesis. *Psychiatry Clin Neurosci*. 2018; 72(1): 3-12.
- BOLANOS, J. P., M. A. MORO, I. LIZASOAIN AND A. ALMEIDA Mitochondria and reactive oxygen and nitrogen species in neurological disorders and stroke: Therapeutic implications. *Adv Drug Deliv Rev*. 2009; 61(14): 1299-1315.
- BOLONNA, A. A. AND R. W. KERWIN Partial agonism and schizophrenia. *Br J Psychiatry*. 2005; 186: 7-10.
- BUNOUST, O., A. DEVIN, N. AVERET, N. CAMOUGRAND, et al. Competition of electrons to enter the respiratory chain: a new regulatory mechanism of oxidative metabolism in *Saccharomyces cerevisiae*. *J Biol Chem*. 2005; 280(5): 3407-3413.
- BURKHARDT, C., J. P. KELLY, Y. H. LIM, C. M. FILLEY, et al. Neuroleptic medications inhibit complex I of the electron transport chain. *Ann Neurol*. 1993; 33(5): 512-517.

CALLALY, E., K. WALDER, G. MORRIS, M. MAES, et al. Mitochondrial dysfunction in the pathophysiology of bipolar disorder: effects of pharmacotherapy. *Mini Rev Med Chem*. 2015; 15(5): 355-365.

CASADEMONT, J., G. GARRABOU, O. MIRÓ, S. LÓPEZ, et al. Neuroleptic treatment effect on mitochondrial electron transport chain: peripheral blood mononuclear cells analysis in psychotic patients. *J Clin Psychopharmacol*. 2007; 27(3): 284-288.

CASTRÉN, E. Neurotrophic effects of antidepressant drugs. *Curr Opin Pharmacol*. 2004; 4(1): 58-64.

CATALDO, A. M., D. L. MCPHIE, N. T. LANGE, S. PUNZELL, et al. Abnormalities in mitochondrial structure in cells from patients with bipolar disorder. *Am J Pathol*. 2010; 177(2): 575-585.

CEBERS, G., B. ZHIVOTOVSKY, M. ANKARCORONA AND S. LILJEQUIST AMPA neurotoxicity in cultured cerebellar granule neurons: mode of cell death. *Brain Res Bull*. 1997; 43(4): 393-403.

CHURCH, M. K. AND K. D. YOUNG The characteristics of inhibition of histamine release from human lung fragments by sodium cromoglycate, salbutamol and chlorpromazine. *Br J Pharmacol*. 1983; 78(4): 671-679.

CIKANKOVA, T., E. SIGITOVA, M. ZVEROVA, Z. FISAR, et al. Mitochondrial dysfunctions in bipolar disorder: effect of the disease and pharmacotherapy. *CNS Neurol Disord Drug Targets*. 2017; 16(2): 176-186.

CLAY, H. B., S. SILLIVAN AND C. KONRADI Mitochondrial dysfunction and pathology in bipolar disorder and schizophrenia. *Int J Dev Neurosci*. 2011; 29(3): 311-324.

COPPEN, A. The biochemistry of affective disorders. *Br J Psychiatry*. 1967; 113(504): 1237-1264.

CORRELL, C. U., A. M. FREDERICKSON, J. M. KANE AND P. MANU Does antipsychotic polypharmacy increase the risk for metabolic syndrome? *Schizophr Res*. 2007; 89(1-3): 91-100.

COSTA, C., V. BELCASTRO, A. TOZZI, M. DI FILIPPO, et al. Electrophysiology and pharmacology of striatal neuronal dysfunction induced by mitochondrial complex I inhibition. *J Neurosci*. 2008; 28(32): 8040-8052.

DE HERT, M., V. SCHREURS, K. SWEERS, D. VAN EYCK, et al. Typical and atypical antipsychotics differentially affect long-term incidence rates of the metabolic syndrome in first-episode patients with schizophrenia: a retrospective chart review. *Schizophr Res*. 2008; 101(1-3): 295-303.

DE OLIVEIRA, M. R. Fluoxetine and the mitochondria: A review of the toxicological aspects. *Toxicol Lett*. 2016; 258: 185-191.

DE SOUSA, R. T., E. L. STRECK, M. V. ZANETTI, G. K. FERREIRA, et al. Lithium increases leukocyte mitochondrial complex I activity in bipolar disorder during depressive episodes. *Psychopharmacology (Berl)*. 2015; 232(1): 245-250.

DEL CAMPO, A., C. BUSTOS, C. MASCAYANO, C. ACUÑA-CASTILLO, et al. Metabolic Syndrome and Antipsychotics: The Role of Mitochondrial Fission/Fusion Imbalance. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2018; 9: 144.

DEUSCHLE, M. Effects of antidepressants on glucose metabolism and diabetes mellitus type 2 in adults. *Curr Opin Psychiatry*. 2013; 26(1): 60-65.

DODD, S., M. MAES, G. ANDERSON, O. M. DEAN, et al. Putative neuroprotective agents in neuropsychiatric disorders. *Progress in Neuro-Psychopharmacology & Biological Psychiatry*. 2013; 42: 135-145.

DUMAN, R. S. Synaptic plasticity and mood disorders. *Mol Psychiatry*. 2002; 7(1): S29-S34.

DUMAN, R. S., G. R. HENINGER AND E. J. NESTLER A molecular and cellular theory of depression. *Arch Gen Psychiatry*. 1997; 54(7): 597-606.

EINAT, H. AND H. K. MANJI Cellular plasticity cascades: genes-to-behavior pathways in animal models of bipolar disorder. *Biol Psychiatry*. 2006; 59(12): 1160-1171.

ELKASHEF, A. M. AND R. J. WYATT Tardive dyskinesia: possible involvement of free radicals and treatment with vitamin E. *Schizophr Bull*. 1999; 25(4): 731-740.

ELMORSY, E., A. AL-GHAFARI, A. M. AGGOUR, S. M. MOSAD, et al. Effect of antipsychotics on mitochondrial bioenergetics of rat ovarian theca cells. *Toxicol Lett*. 2017; 272: 94-100.

FATTAL, O., K. BUDUR, A. J. VAUGHAN AND K. FRANCO Review of the literature on major mental disorders in adult patients with mitochondrial diseases. *Psychosomatics*. 2006; 47(1): 1-7.

FINSTERER, J. AND S. ZARROUK MAHJOUB Mitochondrial toxicity of antiepileptic drugs and their tolerability in mitochondrial disorders. *Expert Opin Drug Metab Toxicol*. 2012; 8(1): 71-79.

FISAR, Z., J. HROUDOVA AND J. RABOCH Inhibition of monoamine oxidase activity by antidepressants and mood stabilizers. *Neuro Endocrinol Lett*. 2010; 31(5): 645-656.

FISAR, Z., R. KRULIK, K. FUKSOVÁ AND J. SIKORA Imipramine distribution among red blood cells, plasma and brain tissue. *Gen Physiol Biophys*. 1996; 15(1): 51-64.

FÍŠAR, Z., J. HRODOVÁ, N. SINGH, D. MACEČKOVÁ, et al. Protocols for high-resolution respirometry experiments to test the activity of electron transfer system of pig brain mitochondria. *Indian J Biochem Biophys*. 2017; 54(6): 258-272.

FOOD, U. S. Zeldox capsules (ziprasidone): summary of efficacy and safety and overall benefit risk relationship. US Food and Drug Administration. 2000

FREY, B. N., J. A. STANLEY, F. G. NERY, E. S. MONKUL, et al. Abnormal cellular energy and phospholipid metabolism in the left dorsolateral prefrontal cortex of medication-free individuals with bipolar disorder: an in vivo <sup>1</sup>H MRS study. *Bipolar Disord*. 2007; 9(1): 119-127.

GHAEMI, S. N., D. J. HSU, F. SOLDANI AND F. K. GOODWIN Antidepressants in bipolar disorder: the case for caution. *Bipolar Disord*. 2003; 5(6): 421-433.

GLASSMAN, A. H. AND J. T. BIGGER Antipsychotic drugs: prolonged QTc interval, torsade de pointes, and sudden death. *Am J Psychiatry*. 2001; 158(11): 1774-1782.

GNAIGER, E. Capacity of oxidative phosphorylation in human skeletal muscle: new perspectives of mitochondrial physiology. *Int J Biochem Cell Biol*. 2009; 41(10): 1837-1845.

GOFF, D. C., G. TSAI, M. F. BEAL AND J. T. COYLE Tardive dyskinesia and substrates of energy metabolism in CSF. *Am J Psychiatry*. 1995; 152(12): 1730-1736.

GUO, J. J., P. E. KECK, P. K. COREY-LISLE, H. LI, et al. Risk of diabetes mellitus associated with atypical antipsychotic use among patients with bipolar disorder: A retrospective, population-based, case-control study. *J Clin Psychiatry*. 2006; 67(7): 1055-1061.

GUPTA, S., P. S. MASAND, S. VIRK, T. SCHWARTZ, et al. Weight decline in patients switching from olanzapine to quetiapine. *Schizophr Res*. 2004; 70(1): 57-62.

HADDAD, P. M. AND I. M. ANDERSON Antipsychotic-related QTc prolongation, torsade de pointes and sudden death. *Drugs*. 2002; 62(11): 1649-1671.

HADDJERI, N., S. T. SZABO, C. DE MONTIGNY AND P. BLIER Increased tonic activation of rat forebrain 5-HT(1A) receptors by lithium addition to antidepressant treatments. *Neuropsychopharmacology*. 2000; 22(4): 346-356.

HENINGER, G. R., P. L. DELGADO AND D. S. CHARNEY The revised monoamine theory of depression: a modulatory role for monoamines, based on new findings from monoamine depletion experiments in humans. *Pharmacopsychiatry*. 1996; 29(1): 2-11.

HINDMARCH, I. Beyond the monoamine hypothesis: mechanisms, molecules and methods. *Eur Psychiatry*. 2002; 17(3): 294-299.

- HIRST, J. Towards the molecular mechanism of respiratory complex I. *Biochem J.* 2010; 425(2): 327-339.
- HROUDOVA, J. AND Z. FISAR Activities of respiratory chain complexes and citrate synthase influenced by pharmacologically different antidepressants and mood stabilizers. *Neuro Endocrinol Lett.* 2010; 31(3): 336-342.
- HROUDOVA, J. AND Z. FISAR Connectivity between mitochondrial functions and psychiatric disorders. *Psychiatry Clin Neurosci.* 2011; 65(2): 130-141.
- HROUDOVA, J. AND Z. FISAR In vitro inhibition of mitochondrial respiratory rate by antidepressants. *Toxicology Letters.* 2012; 213(3): 345-352.
- HRODOVÁ, J., Z. FIŠAR, H. HANSÍKOVÁ, L. KALIŠOVÁ, et al. Mitochondrial Dysfunction in Blood Platelets of Patients with Manic Episode of Bipolar Disorder. *CNS Neurol Disord Drug Targets.* 2019; 18(3): 222-231.
- HRODOVÁ, J., N. SINGH AND Z. FISAR Mitochondrial dysfunctions in neurodegenerative diseases: Relevance to Alzheimer's disease. *Biomed Res Int.* 2014.
- HYTTEL, J. Pharmacological characterization of selective serotonin reuptake inhibitors (SSRIs). *Int Clin Psychopharmacol.* 1994; 9(1): 19-26.
- IWAMOTO, K., M. BUNDO AND T. KATO Altered expression of mitochondria-related genes in postmortem brains of patients with bipolar disorder or schizophrenia, as revealed by large-scale DNA microarray analysis. *Hum Mol Genet.* 2005; 14(2): 241-253.
- JACOBS, B. L. Adult brain neurogenesis and depression. *Brain Behav Immun.* 2002; 16(5): 602-609.
- JACOBS, B. L., H. VAN PRAAG AND F. H. GAGE Adult brain neurogenesis and psychiatry: a novel theory of depression. *Mol Psychiatry.* 2000; 5(3): 262-269.
- JAFARIAN, I., M. R. ESKANDARI, V. MASHAYEKHI, M. AHADPOUR, et al. Toxicity of valproic acid in isolated rat liver mitochondria. *Toxicol Mech Methods.* 2013; 23(8): 617-623.
- JANG, E. H., C. S. PARK AND J. H. KANG Bupropion, an atypical antidepressant, induces endoplasmic reticulum stress and caspase-dependent cytotoxicity in SH-SY5Y cells. *Toxicology.* 2011; 285(1-2): 1-7.
- JANICAK, P. G. The relevance of clinical pharmacokinetics and therapeutic drug monitoring: anticonvulsant mood stabilizers and antipsychotics. *J Clin Psychiatry.* 1993; 54: 35-41.
- JOU, S. H., N. Y. CHIU AND C. S. LIU Mitochondrial dysfunction and psychiatric disorders. *Chang Gung Med J.* 2009; 32(4): 370-379.
- KADENBACH, B. Intrinsic and extrinsic uncoupling of oxidative phosphorylation. *Biochim Biophys Acta.* 2003; 1604(2): 77-94.
- KADENBACH, B., R. RAMZAN, L. WEN AND S. VOGT New extension of the Mitchell Theory for oxidative phosphorylation in mitochondria of living organisms. *Biochim Biophys Acta.* 2010; 1800(3): 205-212.
- KAPUR, S. AND P. SEEMAN Does fast dissociation from the dopamine D(2) receptor explain the action of atypical antipsychotics?: A new hypothesis. *Am J Psychiatry.* 2001; 158(3): 360-369.
- KARANIKIS, P., P. KORANTZOPOULOS, E. KOUNTOURIS, V. DIMITROULA, et al. Kearns-Sayre syndrome associated with trifascicular block and QT prolongation. *Int J Cardiol.* 2005; 101(1): 147-150.
- KATO, T. Mitochondrial dysfunction as the molecular basis of bipolar disorder: therapeutic implications. *CNS Drugs.* 2007; 21(1): 1-11.
- KATO, T. Role of mitochondrial DNA in calcium signaling abnormality in bipolar disorder. *Cell Calcium.* 2008; 44(1): 92-102.
- KATO, T. AND N. KATO Mitochondrial dysfunction in bipolar disorder. *Bipolar Disord.* 2000; 2(1): 180-190.



KEEGAN, D. Risperidone: neurochemical, pharmacologic and clinical properties of a new antipsychotic drug. *Can J Psychiatry*. 1994; 39(9): S46-S52.

KEMPERMANN, G. AND G. KRONENBERG Depressed new neurons--adult hippocampal neurogenesis and a cellular plasticity hypothesis of major depression. *Biol Psychiatry*. 2003; 54(5): 499-503.

KIM, H. K., W. CHEN AND A. C. ANDREAZZA The Potential Role of the NLRP3 Inflammasome as a Link between Mitochondrial Complex I Dysfunction and Inflammation in Bipolar Disorder. *Neural Plast*. 2015.

KIM, J. A., Y. WEI AND J. R. SOWERS Role of mitochondrial dysfunction in insulin resistance. *Circ Res*. 2008; 102(4): 401-414.

KIM, Y. J., H. H. KO, E. S. HAN AND C. S. LEE Lamotrigine inhibition of rotenone- or 1-methyl-4-phenylpyridinium-induced mitochondrial damage and cell death. *Brain Res Bull*. 2007; 71(6): 633-640.

KOBAYASHI, M., H. MORISHITA, N. SUGIYAMA, K. YOKOCHI, et al. Two cases of NADH-coenzyme Q reductase deficiency: relationship to MELAS syndrome. *J Pediatr*. 1987; 110(2): 223-227.

KRAGULJAC, N. V., M. REID, D. WHITE, R. JONES, et al. Neurometabolites in schizophrenia and bipolar disorder - a systematic review and meta-analysis. *Psychiatry Res*. 2012; 203(2-3): 111-125.

KRISHNAN, V. AND E. J. NESTLER The molecular neurobiology of depression. *Nature*. 2008; 455(7215): 894-902.

LAGRUE, E., S. CHALON, S. BODARD, E. SALIBA, et al. Lamotrigine is neuroprotective in the energy deficiency model of MPTP intoxicated mice. *Pediatr Res*. 2007; 62(1): 14-19.

LAI, J. S., C. ZHAO, J. J. WARSH AND P. P. LI Cytoprotection by lithium and valproate varies between cell types and cellular stresses. *Eur J Pharmacol*. 2006; 539(1-2): 18-26.

LEVY, M. J. F., F. BOULLE, H. W. STEINBUSCH, D. L. A. VAN DEN HOVE, et al. Neurotrophic factors and neuroplasticity pathways in the pathophysiology and treatment of depression. *Psychopharmacology (Berl)*. 2018; 235(8): 2195-2220.

LHERM, T., F. LOTTIN, D. LARBI, M. BRAY, et al. Torsade de pointes after poisoning with fluoxetine alone. *Presse Med*. 2000; 29(6): 306-307.

LIU, T., E. TAKIMOTO, V. L. DIMAANO, D. DEMAZUMDER, et al. Inhibiting mitochondrial Na<sup>+</sup>/Ca<sup>2+</sup> exchange prevents sudden death in a Guinea pig model of heart failure. *Circ Res*. 2014; 115(1): 44-54.

LOWRY, O. H., N. J. ROSEBROUGH, A. L. FARR AND R. J. RANDALL Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J Biol Chem*. 1951; 193(1): 265-275.

MACRITCHIE, K., J. R. GEDDES, J. SCOTT, D. HASLAM, et al. Valproate for acute mood episodes in bipolar disorder. *Cochrane Database Syst Rev*. 2003; (1).

MAES, M., Z. FISAR, M. MEDINA, G. SCAPAGNINI, et al. New drug targets in depression: inflammatory, cell-mediated immune, oxidative and nitrosative stress, mitochondrial, antioxidant, and neuroprogressive pathways. And new drug candidates--Nrf2 activators and GSK-3 inhibitors. *Inflammopharmacology*. 2012; 20(3): 127-150.

MAES, M., R. YIRMYIA, J. NORABERG, S. BRENE, et al. The inflammatory & neurodegenerative (I&ND) hypothesis of depression: leads for future research and new drug developments in depression. *Metab Brain Dis*. 2009; 24(1): 27-53.

MARON, B. J., J. A. TOWBIN, G. THIENE, C. ANTZELEVITCH, et al. Contemporary definitions and classification of the cardiomyopathies: an American Heart Association Scientific Statement from the Council on Clinical Cardiology, Heart Failure and Transplantation Committee; Quality of Care and Outcomes Research and Functional Genomics and Translational Biology Interdisciplinary Working Groups; and Council on Epidemiology and Prevention. *Circulation*. 2006; 113(14): 1807-1816.

MASAND, P. S., L. CULPEPPER, D. HENDERSON, S. LEE, et al. Metabolic and endocrine disturbances in psychiatric disorders: a multidisciplinary approach to appropriate atypical antipsychotic utilization. *CNS Spectr*. 2005; 10(14): 11-15.

MATHEW, S. J., H. K. MANJI AND D. S. CHARNEY Novel drugs and therapeutic targets for severe mood disorders. *Neuropsychopharmacology*. 2008; 33(9): 2080-2092.

MAURER, I. AND H. J. MÖLLER Inhibition of complex I by neuroleptics in normal human brain cortex parallels the extrapyramidal toxicity of neuroleptics. *Mol Cell Biochem*. 1997; 174(1-2): 255-259.

MAURER, I. C., P. SCHIPPEL AND H. P. VOLZ Lithium-induced enhancement of mitochondrial oxidative phosphorylation in human brain tissue. *Bipolar Disord*. 2009; 11(5): 515-522.

MODICA-NAPOLITANO, J. S., C. J. LAGACE, W. A. BRENNAN AND J. R. APRILLE Differential effects of typical and atypical neuroleptics on mitochondrial function in vitro. *Arch Pharm Res*. 2003; 26(11): 951-959.

MUNAKATA, K., K. IWAMOTO, M. BUNDO AND T. KATO Mitochondrial DNA 3243A>G mutation and increased expression of LARS2 gene in the brains of patients with bipolar disorder and schizophrenia. *Biol Psychiatry*. 2005; 57(5): 525-532.

NASRALLAH, H. A. Atypical antipsychotic-induced metabolic side effects: insights from receptor-binding profiles. *Mol Psychiatry*. 2008; 13(1): 27-35.

NESTLER, E. J., M. BARROT, R. J. DILEONE, A. J. EISCH, et al. Neurobiology of depression. *Neuron*. 2002; 34(1): 13-25.

NIERENBERG, A. A., C. KANSKY, B. P. BRENNAN, R. C. SHELTON, et al. Mitochondrial modulators for bipolar disorder: a pathophysiologically informed paradigm for new drug development. *Aust N Z J Psychiatry*. 2013; 47(1): 26-42.

NOJI, H. AND M. YOSHIDA The rotary machine in the cell, ATP synthase. *J Biol Chem*. 2001; 276(3): 1665-1668.

OGASAHARA, S., A. G. ENGEL, D. FRENS AND D. MACK Muscle coenzyme Q deficiency in familial mitochondrial encephalomyopathy. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1989; 86(7): 2379-2382.

OLIVA, C. R., W. ZHANG, C. LANGFORD, M. J. SUTO, et al. Repositioning chlorpromazine for treating chemoresistant glioma through the inhibition of cytochrome c oxidase bearing the COX4-1 regulatory subunit. *Oncotarget*. 2017; 8(23): 37568-37583.

OTA, A., A. NAKASHIMA, Y. S. KANEKO, K. MORI, et al. Effects of aripiprazole and clozapine on the treatment of glycolytic carbon in PC12 cells. *J Neural Transm (Vienna)*. 2012; 119(11): 1327-1342.

PATHAK, R. U. AND G. P. DAVEY Complex I and energy thresholds in the brain. *Biochim Biophys Acta*. 2008; 1777(7-8): 777-782.

PESTA, D. AND E. GNAIGER High-resolution respirometry: OXPHOS protocols for human cells and permeabilized fibers from small biopsies of human muscle. *Methods Mol Biol*. 2012; 810: 25-58.

PINNA, G., O. BROEDEL, M. ERAVCI, G. STOLTENBURG-DIDINGER, et al. Thyroid hormones in the rat amygdala as common targets for antidepressant drugs, mood stabilizers, and sleep deprivation. *Biol Psychiatry*. 2003; 54(10): 1049-1059.

PITTENGER, C. AND R. S. DUMAN Stress, depression, and neuroplasticity: a convergence of mechanisms. *Neuropsychopharmacology*. 2008; 33(1): 88-109.

PONCHAUT, S., J. P. DRAYE, F. VAN HOOFF AND K. VEITCH Loss of hepatic cytochrome aa3 during chronic valproate treatment: dissociation of proton pumping and electron transport in Complex IV. *Biochem Soc Trans*. 1991; 19(3): 253S.

PONCHAUT, S., F. VAN HOOFF AND K. VEITCH In vitro effects of valproate and valproate metabolites on mitochondrial oxidations. Relevance of CoA sequestration to the observed inhibitions. *Biochem Pharmacol*. 1992; 43(11): 2435-2442.

POST, R. M. AND S. R. WEISS Tolerance to the prophylactic effects of carbamazepine and related mood stabilizers in the treatment of bipolar disorders. *CNS Neurosci Ther*. 2011; 17(6): 649-660.

QUIROZ, J. A., N. A. GRAY, T. KATO AND H. K. MANJI Mitochondrially mediated plasticity in the pathophysiology and treatment of bipolar disorder. *Neuropsychopharmacology*. 2008; 33(11): 2551-2565.

REDROBE, J. P. AND M. BOURIN Evidence of the activity of lithium on 5-HT<sub>1B</sub> receptors in the mouse forced swimming test: comparison with carbamazepine and sodium valproate. *Psychopharmacology (Berl)*. 1999; 141(4): 370-377.

RICE, M. W., K. L. SMITH, R. C. ROBERTS, E. PEREZ-COSTAS, et al. Assessment of cytochrome C oxidase dysfunction in the substantia nigra/ventral tegmental area in schizophrenia. *PLoS One*. 2014; 9(6): e100054.

ROGAWSKI, M. A. AND W. LÖSCHER The neurobiology of antiepileptic drugs for the treatment of nonepileptic conditions. *Nat Med*. 2004; 10(7): 685-692.

SANGANI, A. AND A. SAADABADI. *Neuroleptic Medications*. In *StatPearls*. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing LLC., 2017.

SANTOS, N. A., W. S. MEDINA, N. M. MARTINS, F. E. MINGATTO, et al. Aromatic antiepileptic drugs and mitochondrial toxicity: effects on mitochondria isolated from rat liver. *Toxicol In Vitro*. 2008a; 22(5): 1143-1152.

SANTOS, N. A., W. S. MEDINA, N. M. MARTINS, M. A. RODRIGUES, et al. Involvement of oxidative stress in the hepatotoxicity induced by aromatic antiepileptic drugs. *Toxicol In Vitro*. 2008b; 22(8): 1820-1824.

SCAINI, G., J. QUEVEDO, D. VELLIGAN, D. L. ROBERTS, et al. Second generation antipsychotic-induced mitochondrial alterations: Implications for increased risk of metabolic syndrome in patients with schizophrenia. *Eur Neuropsychopharmacol*. 2018; 28(3): 369-380.

SCATENA, R., P. BOTTONI, G. BOTTA, G. E. MARTORANA, et al. The role of mitochondria in pharmacotoxicology: a reevaluation of an old, newly emerging topic. *Am J Physiol Cell Physiol*. 2007; 293(1): C12-21.

SCHEFFLER, I. E. Molecular genetics of succinate:quinone oxidoreductase in eukaryotes. *Prog Nucleic Acid Res Mol Biol*. 1998; 60: 267-315.

SCHILDKRAUT, J. J. The catecholamine hypothesis of affective disorders: a review of supporting evidence. *Am J Psychiatry*. 1965; 122(5): 509-522.

SEEMAN, P. Atypical antipsychotics: mechanism of action. *Can J Psychiatry*. 2002; 47(1): 27-38.

SHAO, L., M. V. MARTIN, S. J. WATSON, A. SCHATZBERG, et al. Mitochondrial involvement in psychiatric disorders. *Ann Med*. 2008; 40(4): 281-295.

SIGITOVA, E., Z. FISAR, J. HROUDOVÁ, T. CIKÁNKOVÁ, et al. Biological hypotheses and biomarkers of bipolar disorder. *Psychiatry Clin Neurosci*. 2017; 71(2): 77-103.

SILVA, M. F., C. C. AIRES, P. B. LUIS, J. P. RUITER, et al. Valproic acid metabolism and its effects on mitochondrial fatty acid oxidation: a review. *J Inherit Metab Dis*. 2008; 31(2): 205-216.

SOEIRO-DE-SOUZA, M. G., V. V. DIAS, M. L. FIGUEIRA, O. V. FORLENZA, et al. Translating neurotrophic and cellular plasticity: from pathophysiology to improved therapeutics for bipolar disorder. *Acta Psychiatr Scand*. 2012; 126(5): 332-341.

SOLMAZ, S. R. AND C. HUNTE Structure of complex III with bound cytochrome c in reduced state and definition of a minimal core interface for electron transfer. *J Biol Chem*. 2008; 283(25): 17542-17549.

SPINAZZI, M., A. CASARIN, V. PERTEGATO, L. SALVIATI, et al. Assessment of mitochondrial respiratory chain enzymatic activities on tissues and cultured cells. *Nat Protoc* 2012; 7(6): 1235-1246.

SRERE Citrate synthase: [EC 4.1.3.7 Citrate oxaloacetate-lyase (CoA acetylating)]. *Methods Enzymol.* 1969; 13: 3-11.

STORK, C. AND P. F. RENSHAW Mitochondrial dysfunction in bipolar disorder: evidence from magnetic resonance spectroscopy research. *Mol Psychiatry.* 2005; 10(10): 900-919.

STRAKOWSKI, S. M., M. P. DELBELLO AND C. M. ADLER The functional neuroanatomy of bipolar disorder: a review of neuroimaging findings. *Mol Psychiatry.* 2005; 10(1): 105-116.

STRECK, E. L., C. L. GONÇALVES, C. B. FURLANETTO, G. SCAINI, et al. Mitochondria and the central nervous system: searching for a pathophysiological basis of psychiatric disorders. *Braz J Psychiatry.* 2014; 36(2): 156-167.

STRECK, E. L., G. T. REZIN, L. M. BARBOSA, L. C. ASSIS, et al. Effect of antipsychotics on succinate dehydrogenase and cytochrome oxidase activities in rat brain. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol.* 2007; 376(1-2): 127-133.

TAYLOR, D. M. Antipsychotics and QT prolongation. *Acta Psychiatr Scand.* 2003; 107(2): 85-95.

TAYLOR, V. AND G. MACQUEEN Associations between bipolar disorder and metabolic syndrome: A review. *J Clin Psychiatry.* 2006; 67(7): 1034-1041.

TOMITSUKA, E., K. KITA AND H. ESUMI Regulation of succinate-ubiquinone reductase and fumarate reductase activities in human complex II by phosphorylation of its flavoprotein subunit. *Proc Jpn Acad Ser B Phys Biol Sci.* 2009; 85(7): 258-265.

TRABUCCHI, M., D. CHENEY, G. RACAGNI AND E. COSTA Involvement of brain cholinergic mechanisms in the action of chlorpromazine. *Nature*, Jun 1974, 249(458), 664-666.

TRUMPOWER, B. L. The protonmotive Q cycle. Energy transduction by coupling of proton translocation to electron transfer by the cytochrome bc1 complex. *J Biol Chem.* 1990; 265(20): 11409-11412.

TURRENS, J. F. Mitochondrial formation of reactive oxygen species. *J Physiol.* 2003; 552( 2): 335-344.

VAN REEDT DORTLAND, A. K., E. J. GILTAY, T. VAN VEEN, F. G. ZITMAN, et al. Metabolic syndrome abnormalities are associated with severity of anxiety and depression and with tricyclic antidepressant use. *Acta Psychiatr Scand.* 2010; 122(1): 30-39.

VARRIALE, P. Fluoxetine (Prozac) as a cause of QT prolongation. *Arch Intern Med.* 2001; 161(4): 612.

VELOT, C. AND P. A. SRERE Reversible transdominant inhibition of a metabolic pathway. In vivo evidence of interaction between two sequential tricarboxylic acid cycle enzymes in yeast. *J Biol Chem.* 2000; 275(17): 12926-12933.

VIEWEG, W. V. New Generation Antipsychotic Drugs and QTc Interval Prolongation. *Prim Care Companion J Clin Psychiatry.* 2003; 5(5): 205-215.

VIEWEG, W. V. AND M. A. WOOD Tricyclic antidepressants, QT interval prolongation, and torsade de pointes. *Psychosomatics.* 2004; 45(5): 371-377.

WALDEN, J., L. SCHAERER, S. SCHLOESSER AND H. GRUNZE An open longitudinal study of patients with bipolar rapid cycling treated with lithium or lamotrigine for mood stabilization. *Bipolar Disord.* 2000;2(4): 336-339.

WEINBACH, E. C., J. L. COSTA, B. D. NELSON, C. E. CLAGGETT, et al. Effects of tricyclic antidepressant drugs on energy-linked reactions in mitochondria. *Biochem Pharmacol.* 1986, 35(9): 1445-1451.

WIRSHING, W. C. Movement disorders associated with neuroleptic treatment. *J Clin Psychiatry.* 2001; 62 (21): 15-18.

WONG-RILEY, M. T. Cytochrome oxidase: an endogenous metabolic marker for neuronal activity. *Trends Neurosci.* 1989; 12(3): 94-101.

ZANETTI, M. V., M. C. OTADUY, R. T. DE SOUSA, W. F. GATTAZ, et al. Bimodal effect of lithium plasma levels on hippocampal glutamate concentrations in bipolar II depression: a pilot study. *Int J Neuropsychopharmacol.* 2015; 18(6).

ZANOTTI, F., A. GNONI, R. MANGIULLO AND S. PAPA Effect of the ATPase inhibitor protein IF1 on H<sup>+</sup> translocation in the mitochondrial ATP synthase complex. *Biochem Biophys Res Commun.* 2009; 384(1): 43-48.

ZARATE, C. A., JR., J. SINGH AND H. K. MANJI Cellular plasticity cascades: targets for the development of novel therapeutics for bipolar disorder. *Biol Psychiatry.* 2006; 59(11): 1006-1020.

ZVĚŘOVÁ, M., J. HROUDOVÁ, Z. FIŠAR, H. HANSÍKOVÁ, et al. Disturbances of mitochondrial parameters to distinguish patients with depressive episode of bipolar disorder and major depressive disorder. *Neuropsychiatr Dis Treat.* 2019; 15: 233-240.

## 8. Seznam příloh

1. **Cikánková T**, Sigitova E, Zvěřová M, Fišar Z, Raboch J, Hroudová J. Mitochondrial dysfunctions in bipolar disorder: effect of the disease and pharmacotherapy. *CNS Neurol Disord Drug Targets*. 2017; 16(2): 176-186.
2. Sigitova E, Fišar Z, Hroudová J, **Cikánková T**, Raboch J. Biological hypotheses and biomarkers of bipolar disorder. *Psychiatry Clin Neurosci*. 2017; 7(2): 77-103.
3. **Cikánková T**, Fišar Z, Bakhouché Y, Ľupták M, Hroudová J. In vitro effects of antipsychotics on mitochondrial respiration. *Naunyn-Schmiedeberg's archives of pharmacology*. 2019; 392(10): 1209-1223.
4. **Cikánková T**, Fišar Z, Hroudová, J. In vitro effects of antidepressants and mood-stabilizing drugs on cell energy metabolism. *Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology*. 2019; 1-15.